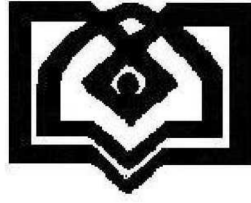


بسم الله الرحمن الرحيم

به نام خداوند بخشنده و مهربان





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پزشکی شهید بابایی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی

عنوان پایان نامه

بررسی اثر پروتواسکولیسیدال گیاهان داروئی و تعیین اثر ایمونومدولاتوری

گیاهان پروتواسکولیسید بر روی سلولهای دندریتیک

اساتید راهنما

دکتر مجتبی شهنازی، دکتر عباس آزاد مهر

اساتید مشاور

دکتر رضا حاجی آقایی، دکتر محمود علیپور حیدری

نگارش

ربابه لطیفی

سال تحصیلی: ۹۴-۹۳

شماره پایان نامه: ۴۰

تقدیم به
گل واژه های آفرینش

پدر و مادر عزیزم

که وجودشان برایم همه عشق است و وجودم برایشان همه رنج ؛
توانشان رفت تا به توانایی رسم و مویشان گرد سپیدی گرفت تا رویم سپید بماند.
و

تقدیم به

همه کسانی که فروغ نگاهشان و گرمی کلامشان و روشنی رویشان
سرمایه جاویدان زندگی من بوده است.



سپاس نامه

خداوند بزرگ را سپاس می گویم که توان اندیشیدن را عطا فرمود و به من این فرصت را داد که بتوانم بهتر به بیماران کمکی هر چند اندک نموده و از آلام آنان بکاهم.

و در این جا برخود لازم می دانم که سپاس خالصانه خود را تقدیم کنم به :

استاد بزرگوار و راهنمایم جناب آقای دکتر مجتبی شهنازی که در این مسیر دشوار

همواره راهنمای اندیشه و حسن عمل برایم بوده است و الطاف بی منت ایشان به من درس ایمان و اندیشه ورزی آموختند.

استاد گرانقدر و راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر عباس آزادمهر که با هدایت اندیشمندانه خود مرا به گذرگاه علم و اندیشه راهنمایی نمودند.

اساتید گرامی جناب آقایان دکتر محمود علیپور و دکتر رضا حاجی آقایی مشاور رساله که با هدایت اندیشمندانه خود مرا در این مسیر کمک و راهنمایی فراوان نمودند.

استاد محترم جناب آقای دکتر سرایی که صبورانه و مهربان مرا یاری نمودند.

در انتها تشکر ویژه ای دارم از تمامی اعضای گروه های انگل شناسی (به خصوص آقای باقری)، آناتومی، مرکز تحقیقات، پاتولوژی،

ایمونولوژی و بیوشیمی که مدیون محبت بی دریغشان

هستم و بدون همراهی ایشان طی این راه طولانی میسر نبود.



چکیده فارسی:

بررسی اثر پروتواسکولیسیدال گیاهان دارویی و تعیین اثر ایمونومدولاتوری گیاهان پروتواسکولیسید بر روی سلولهای دندریتیک

زمینه:

هیداتیدوز یکی از مهمترین بیماری های مشترک بین انسان و دام بوده و از انتشار جهانی برخوردار است. در حال حاضر موثرترین روش درمانی هیداتیدوز عمل جراحی است. هنگام عمل جراحی، نشت محتویات کیست معمول بوده و بیشترین عامل عود بیماری محسوب می شود. انتخاب مواد پروتواسکولیسیدال موثر و کم ضرر و تزریق آنها به داخل کیست ها می تواند خطر نشت پروتواسکولکس های زنده را کاهش دهد. مواد پروتواسکولیسیدال زیادی برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس ها مورد استفاده قرار گرفته ولی موادی که استفاده از آنها کاملاً موثر و بی ضرر باشد تا حال گزارش نشده است. در حال حاضر استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین مواد مصنوعی فوق که بتوانند برای بدن بی ضرر باشند و باعث تعدیل سیستم ایمنی بدن شوند مورد توجه قرار گرفته است.

هدف: ارزیابی اثر پروتواسکولیسیدال چند گیاه دارویی بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک و تعیین خواص ایمونومدولاتوری گیاهان موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی سلولهای دندریتیک.

مواد و روشها:

کبد گوسفندان آلوده به کیست هیداتیک از کشتارگاه قزوین تهیه و پروتواسکولکس ها با رعایت شرایط استریل جدا گردید. عصاره یا اسانس گیاهان کدو تنبل (*Cucurbita pepo*)، تنباکو (*Nicotina tabacum*)، چای کوهی (*Hypericum perforatum*)، مورد (*Myrtus communis*)، کاکوتی (*Ziziphora tenuior*)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، دارچین (*Cinnamomum aromaticum*) و کافور (*Cinnamomum camphora*) با غلظت های ۳، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه با پروتواسکولکس ها مواجه گردید و با استفاده از اتوزین ۱/۰٪ ویبیلیتی پروتواسکولکس ها مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی اثر ایمونومدولاتوری گیاهان موثر بر پروتواسکولکس ها، سلول های دندریتیک از طحال موش های

BALB/c با روش MACS^۱ به کمک آنتی بادی منوکلونال و بید مغناطیسی جدا شدند و اثر عصاره یا اسانس گیاهان پروتواسکولیسید در غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ µg/ml در مدت زمان ۱۸ ساعت و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در بیان مارکرهای بلوغ سلول های دندریتیک (CD86, CD40 و MHCII) مورد ارزیابی قرار گرفته و به روش فلوسایتومتری اندازه گیری شدند.

یافته ها:

در این مطالعه گیاه کافور با غلظت ۵ mg/ml در مدت ۱۰ دقیقه ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها را از بین برد، در حالیکه گیاهان داروئی کاکوتی، اسطوخودوس، دارچین و مورد به ترتیب با غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml نتوانستند در مدت زمان ۱۰ دقیقه، ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها را از بین ببرند. بعلاوه گیاهان داروئی تنباکو و چای کوهی با غلظت ۱۰۰ mg/ml بعد از ۲۰ دقیقه همه پروتواسکولکس ها را کشتند، در صورتیکه عصاره تخم کدو در تمامی غلظت های مورد استفاده و مدت زمانهای مواجهه اثر قابل ملاحظه ای بر روی پروتواسکولکس ها نداشت. همچنین نتایج داد که عصاره یا اسانس گیاهان، دارای اثرات ایمنومودولاتوری متفاوت بر بلوغ سلولهای دندریتیک (CD86, CD40 و MHCII) بودند. عصاره گیاه تنباکو، دارچین و کافور به طور معنی داری به صورت وابسته به دوز (۱۰۰، ۵۰ و ۱۰۰) سبب کاهش تمامی مارکرهای بلوغ شدند. همینطور عصاره گیاه مورد در تمامی غلظت ها اما گیاه کاکوتی فقط در غلظت ۱۰۰ µg/ml سبب افزایش معنی دار بیان مارکر CD40 شده ($P < 0.05$) ولی اثرات آنها بر دیگر مارکرها معنی دار نبود. دیگر نتایج این تحقیق نشان دادند که گیاه اسطوخودوس فقط در غلظت ۱۰۰ µg/ml توانست با اثر ایمنومودولاتوری سبب کاهش معنی دار بیان همه مارکرهای بلوغ در سطح سلولهای DC گردد با این حال گیاه چای کوهی اثر معنی داری بر بیان تمامی مارکرهای بلوغ نشان نداد.

نتیجه گیری: تمامی گیاهان مورد آزمایش بجز عصاره تخم کدو تاثیر خوبی بر روی پروتواسکولکس ها داشتند که این تاثیر در بعضی گیاهان از جمله کافور، اسطوخودوس، کاکوتی و دارچین قابل ملاحظه بود. همچنین نتایج نشان داد که برخی از گیاهان مانند تنباکو، اسطوخودوس، دارچین و کافور با کاهش درصد مارکرهای بلوغ و بعضی گیاهان دیگر از جمله کاکوتی و مورد با افزایش مارکرهای بلوغ دارای اثرات ایمنومودولاتوری مناسبی می باشند. با این حال تحقیقات

^۱ -Magnetic Cell Sorting

بیشتر جهت بررسی اثر آنها بر تولید سایتوکاین ها و عملکرد سلولهای دندریتیک و نیز نوع پاسخ ایمنی Th1/Th2 پیشنهاد می شود.

کلید واژه: کیست هیداتیک، پروتواسکولیسیدال، گیاهان داروئی، ایمونومدولاتوری، دندریتیک سل، سایتوکاین

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول
	مقدمه:
۱	تاریخچه.....
۲	طبقه بندی اکینو کوکوس.....
۳	مشخصات ریخت شناسی.....
۳	کرم بالغ.....
۳	تخم.....
۴	مقاومت تخم ها.....
۴	ساختمان کیست
۷	چرخه زندگی انگل اکینو کوکوس گرانولوزوس.....
۹	تنوع درون گونه ای.....
۱۱	انتشار بیماری هیداتیدوز در جهان.....
۱۳	انتشار بیماری هیداتیدوز در ایران.....
۱۴	کنترل و پیشگیری بیماری هیداتیدوز.....
۱۵	علائم بیماری هیداتیدوز.....
۱۶	روشهای تشخیص هیداتیدوز.....

۱۸درمان بیماری هیداتیدوز
۱۸درمان دارویی
۱۹درمان جراحی
۲۰درمان از طریق آسپیراسیون مایع کیست هیداتید از راه پوست (PAIR)
۲۰پاسخ های ایمنی در برابر کیست هیداتید
۲۱آنتی بادی
۲۱کمپلمان
۲۱ایمنی سلولی
۲۵بیان مسئله
۲۹فصل دوم: مروری بر متون
۲۹کدوتنبل [<i>Cucurbita pepo</i> (pumpkin)]
۳۰تنباکو (<i>Nicotina tabacum</i>)
۳۴چای کوهی (<i>Hypericum perforatum</i>)
۳۷مورد (<i>Myrtus communis</i>)
۴۴کاکوتی (<i>Ziziphora tenuior</i>)
۴۹اسطوخودوس (<i>Lavandula angustifolia- Lavander</i>)
۵۷دارچین (<i>Cinnamomum aromaticum</i>)
۶۳کافور (<i>Cinnamomum camphora</i>)

۶۶ فصل سوم: اهداف و فرضیات
۶۶ هدف اصلی
۶۶ اهداف فرعی
۶۷ اهداف کاربردی
۶۷ فرضیه ها (Hypothesis) یا سؤال های پژوهش
۶۹ نوع مطالعه و بررسی های آماری

فصل چهارم:

۷۰ مواد و وسایل مورد نیاز
۷۵ روش کار
۷۵ تهیه اسانس ها و عصاره های گیاهی
۷۶ تهیه کیست های هیداتیک و استخراج پروتواسکولکس ها
۷۶ بررسی اثر پروتواسکولکسیدال اسانس یا عصاره گیاهان

جداسازی، تخلیص و کشت سلولی سلولهای دندریتیک (DCs) با روش بید مغناطیسی یا Magntic Cell

۷۸ (MACS) Sorting
----	----------------------

۸۰ فصل پنجم: یافته ها
----	--------------------------

فصل ششم:

۱۰۹ بحث
۱۳۸ نتیجه گیری

پیشهادات..... ۱۳۹

فصل هفتم: منابع..... ۱۴۰

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول (۱): جدول متغیرها.....	۶۸
جدول (۲): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره تخم گیاه کدو در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۳
جدول (۳): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه تنباکو در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۴
جدول (۴): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه چای کوهی در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۵
جدول (۵): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه مورد در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۶
جدول (۶): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه کاکوتی در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۷
جدول (۷): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه اسطوخودوس در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۸
جدول (۸): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف اسانس گیاه دارچین در مدت زمان های مختلف مواجهه.....	۸۹

جدول (۹): اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه کافور در مدت زمان های

مختلف مواجهه ۹۰

جدول (۱۰): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۳ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۱

جدول (۱۱): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۵ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۱

جدول (۱۲): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۱

جدول (۱۳): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۲

جدول (۱۴): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۲

جدول (۱۵): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۲

جدول (۱۶): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۳

جدول (۱۷): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۳

- جدول (۱۸): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۳
- جدول (۱۹): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۴
- جدول (۲۰): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۴
- جدول (۲۱): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۴
- جدول (۲۲): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۵
- جدول (۲۳): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۵
- جدول (۲۴): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۵
- جدول (۲۵): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۶
- جدول (۲۶): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۶

جدول (۲۷): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۶

جدول (۲۸): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۷

جدول (۲۹): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۷

جدول (۳۰): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۷

جدول (۳۱): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۸

جدول (۳۲): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۸

جدول (۳۳): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۸

جدول (۳۴): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۵ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۹

جدول (۳۵): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey ۹۹

جدول (۳۶): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۳ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۹۹

جدول (۳۷): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۵ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۰

جدول (۳۸): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۰

جدول (۳۹): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۰

جدول (۴۰): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۱

جدول (۴۱): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۱

جدول (۴۲): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت

زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۱

جدول (۴۳): اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کافور با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای

مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey..... ۱۰۲

فهرست تصاویر

عنوان	صفحه
تصویر ۱: کیست هیداتیک در ریه گوسفند.....	۷
تصویر ۲: کیست هیداتیک در کبد گوسفند.....	۷
تصویر ۳: چرخه زندگی اکینوкокوس گرانولوزوس.....	۸
تصویر ۴: گیاهان داروئی مورد آزمایش.....	۶۵
تصویر ۵: پروتواسکولکس های زنده، قبل از مواجهه با عصاره و اسانس گیاهان داروئی ۷۷	
تصویر ۶: پروتواسکولکس های مرده، بعد از مواجهه با عصاره و اسانس گیاهان داروئی ۷۸	
تصویر ۷: فلوسیتومتری درصد خلوص سلول $CD8\ 11c^{+}$	۱۰۳
تصویر ۸: نمونه ای از نتایج فلوسیتومتری درصد بروز مارکرهای بلوغ در سطح سلولهای	
دندریتیک بعد از کشت سلولی و مواجهه با عصاره یا اسانس گیاهان.....	۱۰۴

فصل اول

مقدمه:

تاریخچه:

اکنونکوکوزیس یکی از قدیمی ترین بیماریهای شناخته شده انسان می باشد و از زمانی که انسان به اهلی کردن حیوانات از جمله گوسفند و سگ اقدام کرد، در معرض ابتلاء به هیداتیدوز بوده است. کیست هیداتیک، متاستود اکنونکوکوس گرانولوزوس، اول بار در یونان باستان توسط بقراط، ارسطو و جالینوس (۱۷۰۰-۱۶۰۰ میلادی) تشخیص داده شد (۱). بقراط از آن به عنوان کیسه ای پر از آب در کبد و ریه انسان و دام یاد کرده است. زکریای رازی نیز در قرن نهم میلادی به این بیماری اشاراتی داشته است. در اواخر قرن ۱۷، ردی، تایسون و هارتمن طی تحقیقاتی به ماهیت حیوانی بودن کیست هیداتیک مشکوک شدند. پالاس (۱۷۷۱) برای اولین بار به تشابهات کیست هیداتیک در حیوان و انسان اشاره کرد. پس از گذشت یک قرن، گز (۱۷۸۲) اسکولکس های داخل کیست را توصیف نموده و تشابه آنها را با انتهای قدامی کرم های پهن ثابت کرد و انگل را تنیا ویسرالیس سوشیالیس گرانولوزا نامید. چند سال بعد باش (۱۷۸۶) به کمک میکروسکوپ نوری مرحله نوزادی کرم را تشخیص داد و آن را هیداتیژنا گرانولوزا نامید. رودلفی در سال ۱۸۰۱ جنس اکنونکوکوس را معرفی کرد و در سال ۱۸۰۸ مراحل بالغ انگل را در سگی که به صورت طبیعی آلوده شده بود بررسی نمود و انگل را تنیا کتنی فورمیس نامید.

برنس در سال ۱۸۲۱ اولین مورد هیداتیدوز انسانی را گزارش نمود تا اینکه ون سیبولد در سال ۱۸۵۳ با آلوده کردن تجربی سگ به کیست هیداتیک، چرخه زندگی و ارتباط بین مراحل نوزادی و بلوغ انگل

رانشان داد (۱، ۲). توماس در استرالیا، نانین در برلین و کراب در ایسلند با خوراندن کیست خارج شده از انسان به سگ و تولید کرم بالغ، ارتباط بین انسان و سگ را در چرخه زندگی انگل مشخص کردند. در اواسط قرن ۱۲ بود که سیر تکاملی انگل به طور کامل شناسایی گردید (۱). در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۳۴ هجری شمسی این انگل توسط مکاره چیان و جانبخش در سگهای ولگرد تهران گزارش شد (۲).

طبقه بندی اکینوкокوس:

طبق آخرین گزارشات، عامل ایجاد کیست هیداتید به ترتیب زیر طبقه بندی می شود (۳):

Kingdom: Animalia

Phylum: Platyhelminthes

Class: Cestoda

Sub class: Eucestoda

Order: Cyclophyllidea

Family: Taeniidae

Genus: Echinococcus

اکینوкокوس عضو خانواده *Taeniidae* بوده و تا حال ۴ گونه برای آن شناسایی شده که مهمترین گونه آن اکینوкокوس گرانولوزوس می باشد. اعضاء این خانواده چرخه زندگی غیرمستقیم داشته و دارای دو میزبان پستاندار هستند و همچنین مرحله لاروی آنها، کیسه ای حاوی مایع است. میزبان نهایی آنها سگ سانان و گربه سانان بوده و میزبان واسط شامل گونه های متعددی از گیاه خواران و همه چیزخواران می باشد (۴).

مشخصات ریخت شناسی:

کرم بالغ

اکینووکوس گرانولوزوس یک کرم نواری بسیارکوچک (معمولاً ۶-۳ میلی متر) بوده و دارای یک سر کروی شکل با ۴ بادکش فنجانی و یک روستلوم با ۲۸ تا ۵۰ قلاب، یک گردن کوتاه، یک پروگلوتید^۱ نارس و یک پروگلوتید بالغ و دارای یک یا ۲ عدد پروگلوتید بارور می باشد (۵). سوراخ های تناسلی بطور متناوب و نامنظم در قسمت جانبی بندها قرار گرفته است. تعداد بیضه ها ۴۵ تا ۶۵ عدد بوده و تخمدان در این انگل دو قسمتی می باشد که در عقب آن غدد ویتلوژن^۲ قرار گرفته است. رحم دارای یک تنه اصلی و تعداد ۱۲ تا ۱۵ انشعاب جانبی کوتاه است. بندهای بارور دورترین پروگلوتیدها از قسمت سر یا اسکولکس می باشند. در این بندها دستگاه تناسلی تحلیل رفته و تنها رحم پر از تخم مشاهده می گردد (۶، ۷).

تخم

هر بند بارور حاوی حدود ۶۰۰ عدد تخم کرم است. تخم ها بسیار مقاومند و به مدت ۸-۳ ماه در محیط زنده می مانند. سگ آلوده می تواند روزانه ۲۷۰۰ دام را آلوده کند. تخم کرم گرد متمایل به بیضی بوده و کاملاً شبیه تخم سایر تیاها می باشد، اندازه آن ۳۸-۳۰ میکرون بوده و دارای جدار ضخیم و مخطط می باشد که توسط یک امبریوفور^۳ پوشیده شده است (۱). تخم دارای جنینی به نام انکوسفر می باشد که به علت دارا بودن ۶ قلاب، هگزاکانت^۴ نامیده می شود (۸). هر تخم انگل بعد از بلعیده شدن توسط میزبانهای واسط پس از ۶-۳ ماه به یک کیست هیداتید تبدیل می شود. تخم های

^۱ -Proglotid

^۲ -Vitellogenian glands

^۳ -Emberypophore

^۴ -Hexacanth

کرم همراه با مدفوع سگ آلوده خارج شده و در محیط پراکنده می گردند. انسان و حیوانات با خوردن این تخم ها همراه با آب، غذا و سبزیجات، آلوده می شوند (۵، ۹).

مقاومت تخم ها

دمای بالا و خشکی هوا مهمترین عوامل محدود کننده بقای تخم گونه های تنیا در طبیعت هستند. تخم انگل در برف و شرایط انجمادی یکسال می تواند در چراگاه ها زنده بماند اما به خشکی حساس است (۶). تخم انگل ۵/۲ سال در حرارت ۲ درجه سانتیگراد و ۴۵ روز در دمای ۲۶ درجه سانتی گراد زنده می ماند. این تخم در مقابل نور خورشید به سرعت از بین می رود ولی در سایه و نقاط مرطوب تا چندین ماه زنده می ماند (۱۰) و حرارت های ۶۰، ۷۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد به ترتیب در مدت زمان های ۱۰، ۵ و ۱ دقیقه تخم کرم را از بین می برند. مواد شیمیایی و ضد عفونی کننده از قبیل: الکل، فرمالدئید، لیزول و کلرورسیدیم بر روی تخم انگل بی اثر بوده و می توان گفت حرارت بالا تنها راه موثر برای از بین بردن تخم های اکی نوکوکوس می باشد (۱۱).

ساختمان کیست هیداتیک

به مرحله لاروی اکی نوکوکوس گرانولوزوس که در داخل بدن میزبان واسط از جمله دام و انسان تشکیل می شود کیست هیداتیک گفته می شود. پس از خورده شدن تخم توسط میزبان واسط، جنین از تخم خارج شده و از طریق گردش خون به بافت های مختلف می رود. جنین در بافت های مختلف به فرم لاروی (کیست) درآمده و ظرف مدت ۳ ماه قطر آن به ۵-۴ میلی متر و مدت ۵ ماه به ۱ سانتیمتر رسیده و از آن به بعد سالانه ۱ سانتی متر (گاهی ۵ سانتی متر) به قطر آن اضافه می شود. اندازه کیست های هیداتیک به طور معمول ۵ سانتی متر بوده ولی تا ۲۰ سانتی متر هم گزارش شده است (۶).

در لایه داخلی کیستهای هیداتیک تعداد زیادی پروتواسکولکس وجود دارد که در چرخه زندگی انگل نقش مهمی دارند. هنگامی که کیست توسط سگ خورده می شود در روده حیوان، هر

پروتواسکولکس به فرم بالغ انگل تبدیل می گردد. اگر کیست های هیداتیک مستقر در احشاء انسان در اثر ضربه یا هر علت دیگر پاره شوند، پروتواسکولکسها در احشاء مجاور منتشر شده و هر پروتواسکولکس یک کیست هیداتیک جدید ایجاد می کند که به آن کیست ثانویه می گویند (۱۲). کیست هیداتید به شکل اسمز تغذیه نموده و به تدریج نسج را زیر فشار قرار می دهد و سلولهای نسج مجاور را فیروزه می کند (۱۳).

کیست هیداتیک دارای ۲ لایه است که توسط لایه محاط کننده کیست احاطه می شود:

لایه محاط کننده کیست، لایه ای فیروزی بوده که توسط میزبان ایجاد می شود و کیست را احاطه می کند این لایه محصول نوعی واکنش التهابی است که از مراحل اولیه رشد کیست آغاز می شود. این واکنش التهابی در میزبانهای مختلف متفاوت بوده و کیست را تحت تاثیر قرار می دهد. اگر واکنش شدید باشد سبب انهدام و مرگ انگل می شود در حالیکه در میزبانهای واسط اکثرا یک لایه فیروز ایجاد می شود (۱).

دیواره خارجی کیست بنام لایه کوتیکولی، هیالینی یا ورقه ورقه^۱ نامیده شده و دیواره ای چند لایه و بدون هسته به رنگ سفید و ضخامت یک میلیمتر بوده و در مقابل نفوذ میکروب ها مقاوم می باشد ولی کریستالوئید و کولوئیدها از طریق آن قابل نقل و انتقال است.

دیواره داخلی یا غشاء زایا^۲، یک لایه نازک هسته دار به ضخامت حدود ۵ میکرون بوده و از سطح داخلی آن جوانه هایی کیستیک موسوم به کیسه های زایا^۳ به وجود می آید. جدار این کیسه ها از لایه یا غشاء زایا تشکیل شده و از سطح داخلی آن پروتواسکولکس ها^۴ به وجود می آید. معمولا در داخل کیست اصلی (مادر) کیست های کوچکتری با ساختمان مشابه آن به وجود می آید که به آنها کیستهای

^۱ -Laminated layer

^۲ -Germinal layer

^۳ -Brood capsules

^۴ -Protoscoleces

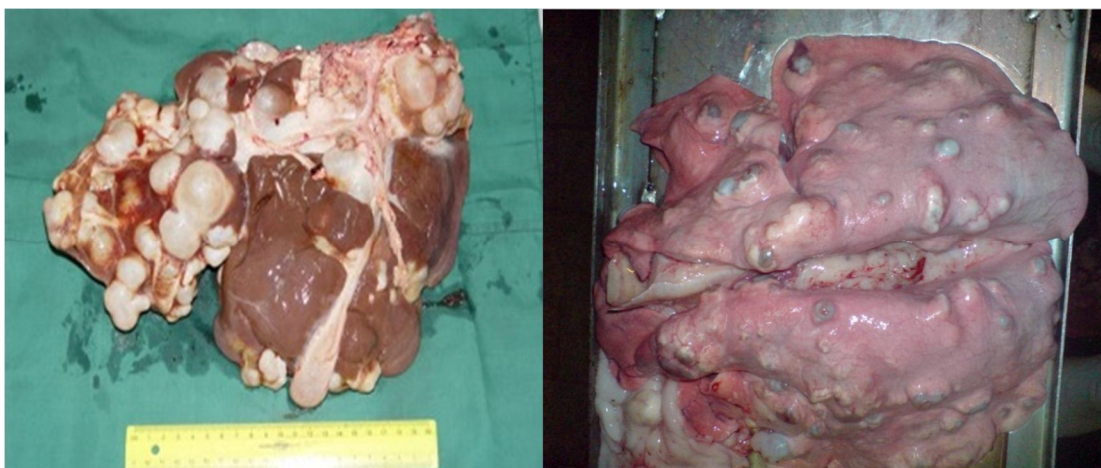
دختر^۱ گفته می شود و درون این کیست ها کیسه های زایا تشکیل می شوند. به طور کلی هر کیست هیداتید کامل حدودا دارای ۲ میلیون پروتواسکولکس است. با رشد بیشتر کیست، کیسه های جوانه ای پاره شده و پروتواسکولکس ها به درون کیست آزاد می شوند. به مجموع کیسه های جوانه ای و پروتواسکولکس های آزاد درون کیست اصلی شن هیداتید^۲ گفته می شود. در صورتی که لارو در بدن میزبان به طور کافی رشد کند بدون آنکه داخل آن اسکولکس ایجاد شود به آن لارو یا کیست بدون سر^۳ یا کیست استریل یا سترون گفته می شود. حدود ۹۵٪ کیست های موجود در گاو، ۲۰٪ کیست های موجود در خوک و ۸٪ کیست های موجود در بدن گوسفند استریل هستند (۶).

مایع درون کیست هیداتید شفاف و به رنگ زرد کمرنگ با وزن مخصوص ۱/۰۰۷ تا ۱/۰۱۵ و حاوی آلبومین و پروتئین های دیگر، ۵/۰ درصد نمک، املاح فسفات و سولفات کلسیم، قند، چربی و مواد دیگر است. این مایع دارای PH به میزان ۷/۴-۷/۲ می باشد. توسط تعدادی از محققین، تشابهی بین مایع هیداتید و سرم میزبانان از نظر گلوکز، اوره، کلرورسدیم، کراتی نین، پروتئینها و املاح، گزارش شده است. کپسولهای زایا و پروتواسکولکس ها در درون این مایع شناورند. مایع هیداتید عاری از باکتری بوده ولی محیطی مناسب برای رشد باکتریهاست (۱۱). در صورت پاره شدن کیست، معمولا واکنش آلرژیک و گاهی آنافیلاکسی و مرگ ممکن است بروز کند (۶).

^۱ -Daughter cyst

^۲ -Hydatid sand

^۳ -Acephalocyst



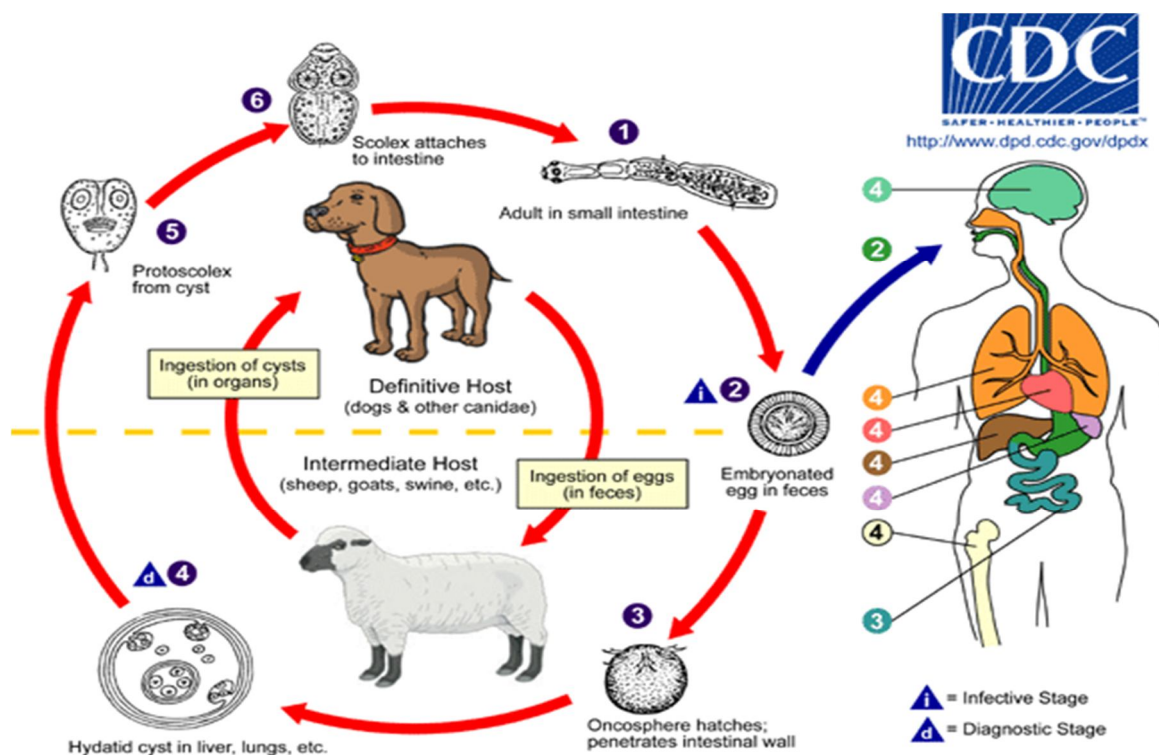
تصویر (۱): کیست هیداتیک در ریه گوسفند

تصویر (۲): کیست هیداتیک در کبد گوسفند

چرخه زندگی انگل اکینوкокوس گرانولوزوس:

کرم بالغ در ژژونوم سگ سانان و دیگر پستانداران گوشتخوار از جمله روباه ها، شغالها، دینگو، کفتار و گرگهای صحرائی به عنوان میزبان قطعی انگل زندگی می کند (۵، ۹). یک سگ ممکن است به هزاران کرم اکینوкокوس گرانولوزوس آلوده باشد. هر دو هفته یکبار از انتهای خلفی هر کرم یک بند رسیده جدا شده و همراه مدفوع سگ خارج می شود. هر بند رسیده حاوی حدود ۶۰۰ عدد تخم کرم است (۱۴). هر تخم کرم پس از بلعیده شدن توسط میزبانهای واسطه پس از ۶-۳ ماه به یک کیست هیداتید تبدیل می شود (۷). مهمترین راه ابتلای انسان به این کیست، ورود تخم انگل از طریق دست و سبزیجات آلوده به دهان است. انگل دارای دو چرخه زندگی متفاوت اهلی و وحشی بوده و گیاهخواران عمده ترین میزبان واسطه در چرخه اهلی انگل می باشند (۵، ۸). به محض بلعیده شدن تخم توسط میزبان واسطه، جنین در اثر شیره های گوارشی از غشاهای احاطه کننده آزاد شده، فعالانه به داخل جدار روده نفوذ کرده و وارد عروق خونی می شود لاروها می توانند در هر اندام یا بافتی جایگزین شوند اما غالباً در کبد و ریه ها یافت می شوند. جنین به آرامی به کیست هیداتید تکامل

یافته، در عرض ۵ ماه یا بیشتر، قطری حدود ۱ سانتیمتر یافته و پس از آن به طور یکنواخت بزرگ تر شده به نحوی که پس از ۱۰ سال یا بیشتر، کیست ها می توانند حاوی چند لیتر مایع باشند. رشد نهایی کیست به مکان جایگزینی آن بستگی دارد (۷، ۸).



تصویر (۳): چرخه زندگی اکینوкокوس گرانولوزوس

تنوع درون گونه ای:

اختلافات ژنتیکی و فنوتیپی در انگلهای یک گونه خاص از مدت‌ها پیش مورد بحث بوده، زیرا باعث بروز تفاوت‌هایی در چهره اپیدمیولوژیک بیماری در مناطق آندمیک و نیز اختلافاتی در تظاهرات بالینی می‌شود. اخیراً با ابداع روشهای ملکولی، راه برای شناسائی هر چه بیشتر و بهتر اختلافات بین گونه ای و درون گونه ای انگل هموارتر شده است. طبق نظر Thompson یک استرین اکینوкокوس شامل گروهی از افراد یک گونه است که از نظر فراوانی ژنها و همچنین از نظر یک یا چند مشخصه از گروههای دیگر همان گونه، از نظر آماری متفاوت بوده و اختلاف معنی داری را نشان می‌دهند. تاکنون ۱۰ ژنوتیپ (G1- G10) از اکینوкокوس گرانولوزوس شناخته شده است که عبارتند از:

۱- سویه گوسفندی (G1): شایعترین سویه انگل است. میزبانهای نهایی شناخته شده این سویه سگ، روباه، دینگو، شغال و کفتار می‌باشند و میزبانهای واسط آن گوسفند، گاو، بز، بوفالو، خوک، شتر، کانگورو و انسان می‌باشند. این سویه از ایران هم گزارش شده است (۱۵).

۲- سویه گوسفندی تاسمانیایی (G2): بجز سگ، روباه نیز ممکن است به عنوان میزبان نهایی آن ایفای نقش کند. میزبان واسط آن گوسفند بوده ولی آلودگی با این سویه از گاو و انسان هم گزارش شده است.

۳- سویه بوفالویی (G3): میزبان اصلی سگ بوده ولی آلودگی روباه به این سویه مشکوک می‌باشد. حساسیت انسان به این سویه مورد تردید است.

۴- سویه اسبی (G4): میزبان نهایی سگ بوده و اسب و تک سمی‌ها میزبان واسط آن می‌باشند. این سویه فاقد قدرت آلوده کنندگی و یا دارای قدرت آلوده کنندگی اندک برای گوسفند، گاو و انسان می‌باشد.

۵- سویه گاوی (G5): میزبان اصلی و واسط شناخته شده برای این سویه به ترتیب سگ و گاو می باشند. یافته های اپیدمیولوژیکی با روشهای مولکولی، حاکی از حساسیت انسان به این سویه است (۲).
۶- سویه شتری (G6): سگ به عنوان میزبان اصلی این سویه محسوب می شود، همچنین از گوسفند، بز و گاو به عنوان میزبانهای واسط یاد شده است. به نظرمی رسد این سویه دارای عفونت زائی کم برای انسان باشد گر چه در بعضی مناطق از جمله ایران آلودگی با این سویه از انسان گزارش شده است (۱۵).

۷- سویه خوکی (G7): معمولا سگ میزبان نهایی و خوک میزبان واسط آن می باشد. اطلاعات کمی در مورد عفونت انسان با سویه خوکی موجود است.

۸- سویه گوزنی (G8): شاید مهمترین چرخه وحشی اکینوкокوس گرانولوزوس در جهان چرخه ای باشد که گرگها به عنوان میزبان اصلی و گوزنهای بزرگ به عنوان میزبان واسط مطرح هستند که در آمریکای شمالی دیده شده است. یک چرخه اهلی نیز بین گوزنهای اهلی و سگها در برخی مناطق کانادا، آلاسکا، سبیری، نروژ و سوئد عمل می کنند. این سویه برای انسان با پاتوژنیسیته پائین آلوده کننده بوده و کیستها اغلب در ریه جایگزین می شوند.

۹- سویه شیری (G9): میزبان اصلی شیر و میزبان واسط آن گراز وحشی، گورخر، بوفالو، زرافه، اسب آبی و بزکوهی گزارش شده است. و در انسان نیز می تواند باعث آلودگی شود.

۱۰- سویه گوزن وحشی (G10): این سویه در کشور کانادا شیوع دارد.

*در ایزوله های خرگوشی به دلیل فقدان داده های ملکولی، امکان قضاوت در مورد ماهیت آنها وجود ندارد (۲).

انتشار بیماری هیداتیدوز در جهان:

انتشار انگل اکینوکوکوس گرانولوزوس در دنیا از قرن دهم شروع شد و در قرن هفدهم و هجدهم به اوج خود رسید (۱۰). به علت توانایی بالای انگل در تطابق خود با گونه های مختلف پستانداران و نیز عدم کنترل ورود و خروج دامی در مناطق مرزی کشورها، انتشار این انگل بسیار وسیع صورت می گیرد (۷). بیشترین میزان شیوع کیست هیداتیک در انسان و حیوانات در مناطقی است که پرورش سنتی دامها بسیار گسترده بوده، سگها به تعداد زیاد به عنوان سگ گله نگهداری می شوند و لاشه دام های مرده یا امعاء و احشاء آنها بعد از کشتار در دسترس سگ ها قرار می گیرد. تفاوت های منطقه ای در میزان شیوع و الگوی انتقال انگل را عوامل متعددی مربوط به میزبان، محیط و رفتارهای انسانی تعیین می کنند. ویژگی های اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی از شناخته شده ترین عوامل آلودگی انسان ها هستند (۶). در همه کشورهای شمال آفریقا (مصر، لیبی، تونس و مراکو) و نواحی ساحلی Sub-Saharan در آفریقا (اتیوپی، کنیا، موریتانی، سودان و تانزانیا) کیست هیداتیک هیپرآندمیک است. بیماری همچنین از بیشتر کشورهای غربی، مرکزی و شمالی آفریقا گزارش شده است (۱۶، ۱۷). در مراکو انگل از طریق سگها و دامهایی چون گوسفند، گاو، شتر، بز و اسب منتقل می شود. در تونس در سال ۲۰۰۱ حدود ۲۱٪ از سگها آلوده گزارش شدند (۱۸). کیست هیداتیک یکی از مهمترین عفونت های زئونوتیک در بسیاری از نواحی اروپایی، سواحل مدیترانه مانند اسپانیا، ایتالیا، یونان، ترکیه و کشورهای شمال شرقی چون بلغارستان و رومانی می باشد. البته بیماری به نظر می رسد کمتر در کشورهای اروپای مرکزی، ایالت بالتیک و اسکاندیناوی دیده شود. در استرالیا این انگل از قرن ۱۸ تا بحال دارای اهمیت بوده و به عنوان یک مشکل بهداشتی در نظر گرفته می شود (۱۶) مخصوصا فرم

وحشی انگل در یک نوع سگ استرالیایی^۱ و کانگوروی قرمز^۲ دیده شده است. در برخی از کشورهای پیشرفته در اثر برنامه های کنترلی موفقیت آمیز به طور مشخص کاهش چشمگیری در انتشار بیماری صورت گرفته بطوریکه در ایسلند، نیوزیلند، تاسمانیا و جنوب قبرس می توان گفت انگل ریشه کن شده است (۷).

در آرژانتین، برزیل، شیلی، پرو و اروگوئه، اکینوکوکوس گرانولوزوس از راه چرخه اهلی شامل سگها به عنوان میزبان قطعی و گوسفند، بز، گاو، اسب، خوک و نوعی شتر به عنوان میزبان واسط منتقل می شود. این انگل به ندرت در کشورهای شمال غربی آمریکای شمالی و آمریکای مرکزی دیده شده است در ایالت متحده نیز به عنوان یک معضل بهداشتی شناخته شده است (۱۶) و در جنوب آمریکا هپیرآندمیک می باشد (۱۹، ۲۰). این انگل به صورت اسپورادیک در کالیفرنیا، یوتا، آریزونا و نیومکزیکو مشاهده شده است، در کانادا و آلاسکا به صورت وحشی در گونه های گوزن محافظت شده وجود دارد (۱۶، ۲۰).

کیست هیداتیک در آسیا و شورهای از جمله ایران، عراق، کویت، پاکستان، عربستان سعودی و آسیای مرکزی شامل قزاقستان، تاجیکستان، ترکمنستان و ازبکستان و همچنین در چین، هند و ژاپن شایع می باشد. همچنین در نواحی شرق مدیترانه و دیگر نواحی خلیج ساحلی و کشورهای شمال شرقی آسیا حائز اهمیت است (۱۶، ۲۱). در عراق ۴۴-۴/۵٪ از گوسفندها، ۲۶/۷-۳/۱٪ بزها و ۱۳/۹-۴/۳٪ گاوها در سال ۲۰۰۲ آلوده گزارش شده اند. در شهر کابل افغانستان، سال ۱۹۸۸، ۷۳٪ از سگ های ولگرد به اکینوکوکوس گرانولوزوس آلوده بودند. در شمال غربی نواحی Mongolia حدود ۵/۲٪ از افراد از نظر سرولوژی نسبت به آنتی ژن B اکینوکوکوس گرانولوزوس مثبت بودند (۲۲).

^۱ -dingoes

^۲ -wallabies

انتشار بیماری هیداتیدوز در ایران:

طبق آخرین اطلاعات جمع آوری شده در سالهای اخیر، سازمان جهانی بهداشت (WHO) ایران را در رده مناطق اندمیک و هیپرآندمیک به ویژه در نواحی روستایی شمال و غرب طبقه بندی نموده است. در مطالعات زیادی که بر روی سگها انجام شده، میزان آلودگی آنها بر حسب منطقه بین ۵ تا ۴۹ درصد گزارش شده است (۲۳). شیوع متوسط هیداتیدوز در کشتارگاههای گیلان، مازندران و گلستان در سالهای ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۸ برابر با ۱۲/۸٪ می باشد (۲۴). سالهای ۱۳۸۱ الی ۱۳۸۵ در مازندران ۷/۳ درصد آلودگی کبدی و ۱۵/۶ درصد آلودگی ریوی در گوسفندان و ۵/۴ درصد کبدی و ۱۲/۷ درصد آلودگی ریوی در گاو میش گزارش شده است. همچنین میزان هیداتیدوز انسانی در طی سالهای ۱۳۸۱ تا ۱۳۸۶ در ایران بطور متوسط ۰/۶۱ درصد هزار گزارش شد (۲۵). میزان شیوع در کشتارگاه های بزرگ اصفهان بین سالهای ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۰ در گوسفند، بز، گاو و گوساله به ترتیب ۱۶/۴، ۳/۱، ۶/۵ و ۸/۲٪ گزارش شد (۲۶). در شیراز نیز از ۱۰۵ سگ ولگرد ۳۶/۱۹٪ آلوده گزارش شده است (۲۷).

در کوه های غرب ایران جمعیت حیوانات وحشی به دلیل تفاوت موقعیت محیطی و جغرافیایی و دور بودن محل زندگی انسان از حیوانات، بسیار کمتر از شمال ایران است. بالاترین میزان شیوع در لرستان ۲۵/۳٪ گزارش شده که کیست ها بیشتر در کبد، ریه، طحال، کلیه و قلب مشاهده شده است (۵۹/۴٪). در سال ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۰ مشاهده شد که سگها در آذربایجان غربی، کردستان، کرمانشاه و لرستان به ترتیب ۱۲/۵، ۱۱/۴، ۱۶/۷ و ۳۰/۹ درصد آلوده بودند. آلودگی روباه ها در کرمانشاه ۷/۱٪، لرستان ۶/۷٪، در آذربایجان غربی، کردستان و ایلام صفر درصد گزارش شد (۲۱). در دوره زمانی ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۹ به طور متوسط ۲۹/۴٪ آلودگی به کیست هیداتیک بیشتر بین رنج سنی ۲۰-۳۰ سال (۱۸/۷٪) در آذربایجان غربی گزارش شده که بیشترین آلودگی در ارومیه بود (۲۸). سال ۲۰۰۷ نیز طی

مطالعه ای شیوع این انگل در بهبهان، شوش، مسجد سلیمان و ایزه به ترتیب ۱/۹، ۱۲/۴، ۱۷/۳ و ۱۸/۲ درصد گزارش شده است (۲۹).

کنترل و پیشگیری بیماری هیداتیدوز:

اکینوкокوس گرانولوزوس یک مشکل دائمی در کشورهایی با اقتصاد پایین است که منابع لازم جهت اجرای یک برنامه ی کنترل تهاجمی که در کشورهای ثروتمند موفقیت آمیز بوده را ندارند.

کنترل کیست هیداتید سه مرحله دارد: برنامه ریزی، حمله و تحکیم (۳۰)

مرحله برنامه ریزی: این مرحله شامل آموزش در مورد چرخه انتقال انگل، از طریق وسایل ارتباط جمعی و مدارس و مساجد، ارزیابی های اجتماعی و تهیه اطلاعات پایه در مورد سن، میزان شیوع کرم در سگها و سایر میزبان های اصلی، حیوانات گیاهخوار و انسان است.

مرحله حمله: جمع آوری سگ های ولگرد، درمان سگ ها با پرازی کوانتل، جلوگیری از دسترسی سگ ها به ارگانهای خام دام های اهلی، درمان ضد تنیا برای سگها هر ۳ ماه یکبار، واکسیناسیون گوسفندها بر علیه بیماری، کنترل کشتار دام و همچنین ایجاد کشتارگاههای مجهز و بهداشتی می باشد. مبارزه با تخم انگل در محیط خارج و پختن سبزیجات و جوشاندن آب در مناطق آلوده از کارهای مهم در این مرحله است. همچنین آمار آلودگی به انگل در دام های کشتار شده و مشخص نمودن سن و میزان بروز موارد جدید عفونت انسانی و پردازش سالیانه در مورد تغییرات در اطلاعات از جمله فعالیت های دیگر در این مرحله می باشد.

مرحله تحکیم: این مرحله در صورتی انجام می شود که سطح قابل قبولی از کنترل به دست آید. در مرحله مذکور روش های به صرفه از نظر اقتصادی جهت حفظ وضعیت کنترل شده مورد استفاده قرار می گیرند (۵، ۱۱).

علائم بیماری هیداتیدوز:

ابتلاء به کیست هیداتیک می تواند به صورت اولیه، با مصرف مواد آلوده به تخم انگل و یا به صورت ثانویه در نتیجه پاره شدن کیست به صورت خود به خودی یا در اثر تروما، جراحی و همچنین متاستاز از کیستهای اولیه ایجاد گردد (۱). مهمترین راه ابتلای انسان به این کیست، ورود تخم انگل از طریق دست و سبزیجات آلوده به دستگاه گوارش می باشد. انکوسفر در روده باریک آزاد و با عبور از مخاط روده وارد جریان خون سیاهرگی شده و بیشترین عضوی که درگیر می کند، کبد و ریه است (۶، ۳۱)، آلودگی در کبد به میزان ۷۰-۵۰٪، ریه به میزان ۲۰ تا ۳۰٪ (۳۳)، مغز، قلب، چشم، طحال و استخوان، کمتر از ۲۰٪ (۳۱) و همچنین به صورت نادر، در کلیه دیده می شود (۳۲). علائم بالینی بیماری هیداتیدوز در انسان و حیوانات بستگی به تعداد، اندازه و محل تشکیل کیستها دارد. در صورتی که کیست هیداتید در اندام های حیاتی مثل مغز و قلب تشکیل شود، خطرات ناشی از بیماری جدی تر است (۱۴).

کبد شایعترین ارگان مبتلا بوده، غالباً هیچ علامتی ندارد و تنها در صورت بزرگ شدن اندازه این اندام، توجه بیمار را به خود جلب می کند (۸). جدی ترین عارضه بیماری هیداتیک کبد، پارگی کیست است که می تواند واکنشهای مهمی از جمله عفونت، انسداد، حساسیت، شوک آنافیلاکسی و حتی مرگ را به دنبال داشته باشد. شوک آنافیلاکسی و مرگ ناگهانی در ۲۵٪ بیماران مبتلا به پارگی

کیست کبدی رخ می دهد. کیستهای کبدی ممکن است به داخل مجاری صفراوی، اندامهای توخالی به ویژه کولون و یا مستقیم به داخل حفره شکم باز شوند. پارگی داخل صفاقی در ۳/۲٪ از بیماران مبتلا به بیماری هیداتیک کبدی رخ می دهد (۳۳). رشد کیست های هیداتید استخوانی به طرز مشخصی غیر طبیعی بوده و غشاء محصور کننده نیز تشکیل نمی شود. کیستها در حفره مغز استخوان رشد یافته، ضخیم شده و غالباً نواحی وسیعی از استخوان را تخریب می کنند (۸). در آلودگی شدید ریه، کاهش ظرفیت تنفسی، افزایش تعداد تنفس، لاغری و هموپتیزی مشاهده می گردد. آلودگی کلیه با اورمی و مرگ همراه است ولی در آلودگی طحال به این کیست علائمی مشاهده نمی گردد (۶، ۷). کیست های درون دستگاه اعصاب مرکزی آسیب های شدیدی را ایجاد می کنند که علائم آنها خیلی مشابه اسپارگانوزیس چشمی می باشد. همچنین وجود کمپلکس های ایمنی در جریان خون به اثبات رسیده و احتمالاً نفروپاتی غشائی مشاهده شده در بیماران ناشی از آن می باشد (۸).

روشهای تشخیص هیداتیدوز:

تشخیص به موقع می تواند به پیشرفت قابل توجهی در کنترل و درمان بیماری بیانجامد. تشخیص هیداتیدوز به روش های زیر امکان پذیر است:

۱- یافته های بالینی و اطلاعات اپیدمیولوژیک و تاریخچه بیمار که شامل زندگی در مناطق اندمیک، شغل، سابقه اقامت در منطقه آلوده و نگهداری سگ می باشند.

۲- در سال های گذشته تست داخل جلدی کازونی چندین دهه روتین بود، که البته از حساسیت و ویژگی پائینی برخوردار است (۱، ۳۴).

۳- تظاهرات مورفولوژیک در روش های تصویر برداری از جمله CT اسکن، سونوگرافی، MRI و رادیوگرافی با اشعه X

البته مطالعات رادیولوژیک برای ارزیابی تشخیص بیماری مفیدتر هستند. در ۹۹٪ از موارد بیماران با عکس ساده قفسه سینه کیستهای ریوی تشخیص داده می شوند. اولتراسونوگرافی برای توصیف ساختمان کیست (تعداد، موقعیت، ساختمان داخلی و پیچیدگی) مفید بوده و اختصاصیت آن بویژه در بیماری های کلیوی و ریوی ۹۰٪ است. اولتراسونوگرافی پرتابل نیز به محققان کمک می کند که تحقیقاتی برای تعیین شیوع اکتینوکوکوزیس انجام دهند، البته توپوگرافی و تصاویر رزونانس مغناطیسی^۱ به نظر می رسد آزمایشات حساستر و دقیق تری باشند و نه تنها به تشخیص کمک می کنند بلکه مراحل دقیق بیماری هم قابل شناسائی است (۳۴، ۳۵).

۴- تست های آزمایشگاهی ایمونولوژیک که شامل جستجوی آنتی بادی ها، آنتی ژنها، کمپلکس های ایمنی موجود در گردش خون و افزایش حساسیت تاخیری می باشند (۳۰).

تکنیک های سروولوژیک هرگز ویژگی و اختصاصیت ۱۰۰ درصدی ندارند. تکنیک ELISA یک بررسی مفید در غربالگری در مقیاس وسیع و مطالعات اپیدمیولوژیک بوده و تیتراهای آن برای سالها به میزان نرمال باز نمی گردند.

روش دیگری مبتنی بر دابل ایمونودیفیوژن در ژل^۲ می باشد که یک تست رسوبی ساده است، اشکال این روش، طولانی بودن زمان آزمایش (۷-۸روز) و مشکل بودن تشخیص خط رسوبی می باشد و به این دلایل این تست اگر چه حساس و دقیق است ولی روتین نمی باشد. تست ایمونو الکتروفورز، در مدت ۳ تا ۴ روزه آماده می شود و در حال حاضر دارای ۹۴-۹۱٪ حساسیت در هیداتیدوز کبدی و

^۱ -Magnetic resonance imaging

^۲ -Ouchtelony test

۷۰٪ در هیداتیدوز ریوی است. کانتر ایمونوالکتروفورز یک تست دابل دیفیوژن است و به دلیل اینکه

جواب آن در مدت زمان ۳ تا ۵ ساعت آماده می شود در کارهای بالینی بسیار مناسب می باشد.

روش ایمونوالکتروفورز غیرمستقیم بویژه در هیداتیدوز کبدی اختصاصی بوده و نتایج با حساسیت

۹۵ درصد در مدت زمان ۲/۵ ساعته آماده می شوند (۳۴، ۳۵).

استاندارد طلائی تشخیص اکینوкокوزیس انسانی بر اساس تشخیص آنتی بادی IgG بر علیه جزء B

آنتی ژن مایع کیست هیداتید است که به روش الیزا یا سایر روشهای ایمونولوژیک صورت می گیرد

(۵، ۳۰).

۵- در آنالیز خون در ۲۵ تا ۵۰ درصد موارد، در شروع عفونت یا در موارد نشت کیست، ائوزینوفیلی

به میزان ۴ تا ۱۵ درصد مشاهده می شود که البته این یافته، یافته ای ثابت و قابل اعتماد نیست (۳۴).

۶- روش بررسی مستقیم کیست، با بررسی و دیدن پروتواسکولکسهای اکینوкокوس گرانولوزوس پس

از آسپیراسیون محتویات کیست که توسط میکروسکوپ نوری انجام می شود (۱).

درمان بیماری هیداتیدوز:

در حال حاضر سه روش برای درمان آن وجود دارد که شامل دارو درمانی، جراحی، آسپیراسیون و

روش PAIR^۱ می باشد (۵، ۹).

درمان دارویی:

(۱) درمان با آلبندازول و مبندازول: این داروها حلالیت کمی در آب داشته بنابراین جذب آنها در روده

ی کوچک محدود است و برای میزبان کم خطر بوده که این می تواند بزرگترین مزیت داروهای مذکور

^۱ -Percutaneous-Aspiration-Injection-Reaspiration

باشد. داروی آلبندازول پس از جذب در روده کوچک به سرعت متابولیزه می شود. متابولیت اصلی آن آلبندازول سولفوکساید است که فعالیت ضد کرمی دارو نیز ناشی از همین متابولیت است. این ماده از دیواره کیست عبور می کند و می توان آن را در مایع کیست ردیابی نمود. در حال حاضر بهترین دارو برای دارو درمانی آلبندازول می باشد (۵).

درمان جراحی:

علی رغم پیشرفتهای قابل توجه درمان دارویی بیماری، کماکان درمان جراحی و تخلیه کیست مهم ترین و قاطع ترین راه درمان بیماری، بخصوص در مورد کیست های بزرگ، کیست های سطحی که احتمال پاره شدن داشته، کیست های عفونی و کیست هایی که در موقعیت آناتومیک حیاتی هستند و فشار قابل توجهی اعمال می کنند، می باشد.

(۱) جراحی باز: جراحی به دلیل ماهیت کیست هیداتید و احتمال نشت پروتواسکولکس های زنده از درون کیست به محل جراحی همواره با مشکل عودهای مکرر همراه بوده است که این موضوع بر اهمیت و پیچیدگی جراحی کیست هیداتید می افزاید (۳۴). جراحان برای جلوگیری از عود و یا کاهش احتمالی آن، هنگام برداشت کیست در اتاق عمل، مواد اسکولکس کش را به داخل کیست هیداتیک تزریق می کنند. تاکنون اسکولکس کشهای شیمیایی زیادی به کار گرفته شده اند. موادی چون فرمالین ۲ درصد، سرم نمکی هیپرتونیک ۳۰-۲۰ درصد، محلول ستریماید - اسکولیساید، نیترا ت نقره و بتادین را می توان به این منظور نام برد. هرکدام از این مواد دارای معایب و محاسنی هستند که کاربرد آنها را محدود می نماید (۳۶).

۳) درمان از طریق آسپیراسیون مایع کیست هیداتید از راه پوست (PAIR):

آسپیراسیون ۵۰ درصد مایع کیست از طریق کشیدن زیر جلدی مایع^۱، با هدایت اولتراسونوگرافی در مبتلایان به کیست هیداتیک به ویژه در افراد مبتلا به بیماری های زمینه ای، قلبی، تنفسی و سنین بالا و جایگزینی آن با یک اسکولیسید از روشهایی است که مورد بررسی قرار گرفته است و از جمله راه های درمانی پیشنهاد شده است (۳۷). متداولترین روش درمانی مورد استفاده فوق که اختصاراً PAIR نامیده می شود، عبارت است از آسپیراسیون زیر جلدی کیست، تزریق محلول سالین هیپرتونیک یا سایر مایعات اسکولیسیدال و آسپیراسیون مجدد آن. جزئیات این روش توسط A khan و همکاران در سال های ۱۹۹۴ و ۱۹۹۶، Bastid و همکاران در سال ۱۹۹۴، salama و همکاران در سال ۱۹۹۵، khuroo و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Smego و همکارانش در سال ۲۰۰۳ تشریح شده است. تمام این افراد معتقدند که این روش درمانی روشی بی خطر و مؤثر در درمان است (۵، ۳۴).

مطالعات نشان می دهد که استفاده از روش ترکیبی PAIR و داروی آلبندازول می تواند روش نسبتاً موثری برای درمان کیست های کبدی باشد البته این روش برای کیست های ریوی مناسب نیست (۷).

پاسخ های ایمنی در برابر کیست هیداتید:

طبق مطالعات انجام شده، کیست هیداتیک با ترکیبات و ترشحات خود پاسخ های متفاوتی را از سلول های ایمنی ایجاد می کند و ترجیحاً سلول های غیرعملکردی موثر بر تخریب انگل را فعال نموده و با انحراف و مهار برخی از پاسخ های ایمنی، شرایط را برای ایجاد عفونت های مزمن فراهم می آورد (۳۸، ۳۹). در زیر به بررسی نقش سیستم ایمنی بر کیست هیداتید اشاره می شود:

^۱ -Percutaneous Drainage

آنتی بادی: تولید آنتی بادی در بدن میزبان با تشکیل مایع هیداتید در کیست آغاز می شود. گزارش شده که آنتی بادی، رشد کیست را در بدن میزبان کنترل می کند و چنانچه تیتراژ آن در سرم بالا باشد تعداد پروتواسکولکس های موجود در کیست بسیار کم خواهند بود به عبارت دیگر آنتی بادی باعث پیدایش کیست استریل در بدن میزبان می شود. در هیداتیدوز در سرم بیماران، آنتی بادی از کلاسهای IgM, IgG و IgA ظاهر می شود و آنتی بادی IgE نیز که در واکنش حساسیت جلدی زودرس و شوک آنافیلاکسی نقش دارد در سرم این بیماران افزایش می یابد (۱۱).

کمپلمان: سیستم کمپلمان می تواند با فعال شدن توسط سیستم ایمنی هومورال بر علیه انگل وارد عمل شود. پروتواسکولکس های اکی نوکوکوس گرانولوزوس قادرند سیستم کمپلمان را، حتی در نبود آنتی بادی فعال کنند. مایع هیداتید خام و فیلتر نشده از تاثیر لیزکنندگی کمپلمان سرم تازه روی پروتواسکولکس ها جلوگیری می کند و شاید به همین دلیل است که در داخل کیست علیرغم وجود کمپلمان در مایع، پروتواسکولکس ها کماکان زنده و فعال باقی می مانند. در مایع هیداتید، فاکتورهای وجود دارد که با کمپلمان سرم وارد عمل شده و C3 را مصرف می کند و در نهایت با ایجاد ترکیبات آنافیلاتوکسینی سبب بروز شوک آنافیلاکسی در هنگام پاره شدن کیست می گردند (۱۱).

ایمنی سلولی: گلبولهای سفید پریئون حیوان آلوده به کیست هیداتید در محیط *In vitro* در مجاورت با پروتواسکولکس ها قادرند بدون دخالت آنتی بادی، آنها را از بین ببرند. در بیماران مبتلا به هیداتیدوز سلولهای لنفوسیت T اهمیت بیشتری از ایمونوگلوبولینها دارند (۴۰، ۱۱).

با توجه به این مفهوم که سلولهای عمل کننده Th_1 و Th_2 از یک سلول پیش ساز تمایز می یابند این سوال مطرح می شود که چه فاکتورهایی باعث پیشرفت تمایز سلولهای امدادگر T به سمت یکی از دو مسیر می شود، که فاکتورهای پیشنهاد شده شامل مواردی از جمله اپی توپهای آنتی ژن، مقدار آنتی ژن،

هورمون ها، ژنوتیپ کمپلکس اصلی سازگاری نسجی^۱، سلول های عرضه کننده آنتی ژن و فاکتورهای تحریک متقابل می باشند. همچنین نقش عمده ایتترفرون گاما و اینترلوکین ۴ در تمایز سلولهای پیش ساز T در محیط In vitro و In vivo مورد بررسی قرار گرفته است.

مطالعه پاسخ های ایمنی در افراد مبتلا به بیماری های عفونی نشان می دهد که الگوی سایتوکایینی Th₁ منعکس کننده مقاومت در برابر عفونت و الگوی سایتوکایینی Th₂ نشانه بیماری است (۴۱). همچنین پاسخ ایمنی علیه کیست هیداتید با فعال شدن هر دو بازوی پاسخ ایمنی Th₁ و Th₂ همراه است ولی انگل می تواند با انحراف پاسخ های ایمنی در فازهای مختلف عفونت، راههای فرار از پاسخ های دفاعی را القاء نماید (۴۲) و مشاهده شده که پاسخ ایمنی موثر در مهار انگل، فعال شدن سلول های Th₁ و دیگر سلولهای کارگزار از قبیل سلولهای دندریتیک به عنوان سلول های عرضه کننده آنتی ژن^۲ می باشند. سلولهای عرضه کننده آنتی ژن گروهی از سلولهای حرفه ای هستند که آنتی ژن را جذب کرده و آنها را در ساختار ویژه ای (شکاف مولکول MHCII) به سلولهای T عرضه می کنند. اگر چه سلولهای زیادی توانائی انجام این کار را دارند ولی اصطلاح "سلولهای عرضه کننده آنتی ژن حرفه ای" به عرضه کننده های موثر آنتی ژن یعنی سلولهای دندریتیک، سلولهای B و ماکروفاژ گفته می شود این سلولها در ایجاد "سیگنال دوم" که برای فعال شدن سلول های T ضروری است، بسیار موثر عمل می کنند. عرضه آنتی ژن به وسیله APC در مسیر فعال شدن سلولهای Th اولین گام ضروری است (۴۳). نقش سلول دندریتیک در القای پاسخ ایمنی مهم است، چون سلول دندریتیک نابالغ سبب القای تورلانس، اما سلول دندریتیک بالغ سبب القای پاسخ ایمنی می شود. آنتی ژن باعث تحریک سلولهای دندریتیک نابالغ شده که این امر باعث تغییرات عملکردی و فنوتیپی در سلولهای دندریتیک می گردد و باعث شیفت کامل سلولهای دندریتیک نابالغ از حالت گرفتن آنتی ژن به

^۱ -MHC

^۲ -APC (Antigen Presenting Cell)

وضعیت سلول عرضه کننده آنتی ژن می گردد. بلوغ سلولهای دندریتیک در نهایت باعث مهاجرت آنها از بافت های محیطی به ارگان های لنفاوی می شود (۴۴، ۴۵).

از طرفی تعامل CD40 با CD40L به عنوان نقش کلیدی در فعال شدن T Cell و B Cell و دندریتیک سل ها و تمایز آن ها دارد و از طرف دیگر CD40 منوسیت ها را وادار به ترشح سیتوکاین ها نموده و باعث افزایش بیان مولکول های سطحی مانند CD80, CD86 و MHCII در دندریتیک سل ها می شود. از جمله شاخص های بلوغ در سلول های دندریتیک، مولکول های CD80, CD86 و HLA- DR می باشند. این مولکول ها در عرضه آنتی ژن توسط دندریتیک سل ها تاثیر دارند. سلولهای دندریتیک نابالغ دارای میزان کمی از این مولکول ها در سطح خود هستند ولی سلولهای دندریتیک بالغ دارای مولکولهای عرضه کننده آنتی ژن و مولکول های چسبان از جمله CD44, CD54, CD50, CD58, CD102, CD11a, MHCII, CD45 RO, CD25, CD11b, بوده که بر روی منوسیتها و ماکروفاژها نیز بیان می شوند. مولکولهای کمک محرک CD86, CD80, CD40, CD83 نیز بر سطح دندریتیک های میلوئیدی بیان می شوند (۴۶).

در یک تقسیم بندی، سلولهای دندریتیک را به دو نوع لنفوئیدی و میلوئیدی متمایز می نمایند. سلولهای دندریتیک لنفوئیدی با تولید فراوان سایتوکاین IL12 سبب القای پاسخ ایمنی سلولی نوع Th₁ می شوند اما سلولهای دندریتیک میلوئیدی سبب القای پاسخ ایمنی نوع Th₂ می گردند (۴۷، ۴۸). تمامی سلولهای دندریتیک که دارای شاخص CD11c+ می باشند، سبب پلاریزه شدن سلولهای T به سمت سلولهای کمکی تیپ یک (Th₁) می شوند. دسته دیگر از سلولهای دندریتیک، CD11c- بوده و سطوح بالایی از CD123 را بیان می کنند. به این نوع سلولها، سلول های پلاسموئیدی می گویند، که منشاء لنفوئیدی داشته و سبب پلاریزه شدن سلول های T به سمت سلولهای Th₂ و ترشح

IL4 و IL5 می شوند. این سلولها زمانیکه با IL3 و CD40L تیمار شوند به دندریتیک های بالغ تبدیل می شوند (۴۶).

از آنجاییکه مواد ایمونومدولاتور، هم در تحریک و افزایش پاسخهای ایمنی و هم در تضعیف و سرکوب پاسخهای سیستم ایمنی فعالیت می کنند بنابراین در پزشکی بالینی از اهمیت ویژه ای برخوردارند. ایمونومدولاتورها در درمان بیماریهایی که در آنها سیستم ایمنی سرکوب شده (بیماریهای توموری، عفونتهای مزمن باکتریایی و سوختگی) و همچنین به عنوان اجوانت در واکسیناسیون و یا برای جلوگیری از رد پیوند و اصلاح اختلالات خودایمنی مورد استفاده قرار می گیرند. وجود ایمونومدولاتور در گیاهان از جمله گیاه سیر توسط محققین متعددی گزارش شده است و نشان می دهد که عصاره سیر قادر است پاسخهای ایمنی سلولی را تحریک نموده و باعث تحریک پاسخ DTH، افزایش تکثیر و فعالیت سلولهای T، تحریک فعالیت ماکروفاژها و سلولهای NK گردد. با توجه به اهمیت این پاسخها در کنترل بیماری های مختلف، مطالعات فراوانی در مورد چگونگی شکل گیری و القاء یا مهار آنها صورت گرفته است (۴۹).

بیان مسئله:

هیداتیدوز یکی از مهمترین بیماری های مشترک بین انسان و دام بوده و از انتشار جهانی برخوردار است (۵۰، ۵۱). این بیماری توسط جایگزینی فرم لاروی اکینوкокوس گرانولوزوس در اندام های مختلف از جمله کبد، ریه و مغز ایجاد می شود و در بسیاری از کشورها از جمله ایران بومی است (۵۲، ۵۳). در حال حاضر موثرترین روش درمانی هیداتیدوز عمل جراحی است (۵۴). موقع عمل جراحی نشت محتویات کیست معمول بوده و بیشترین عامل عود بیماری است و در بسیاری از موارد باعث هیداتیدوز ثانوی در بیمار می شود (۵۵). قبل از عمل جراحی، انتخاب مواد پروتواسکولیسیدال موثر کم ضرر و تزریق آنها به داخل کیست ها خطر نشت پروتواسکولکس های زنده را کاهش داده و این مسئله برای بسیاری از جراحان مهمترین تکنیک جراحی محسوب می شود (۵۴، ۵۶، ۵۷). مواد پروتواسکولیسیدال زیادی برای غیر فعال کردن پروتواسکولکس ها مورد استفاده قرار گرفته ولی موادی که استفاده از آنها کاملاً موثر و بی ضرر باشد تا حال گزارش نشده است (۵۰، ۵۷). چنانچه فرمالین، پراکسید هیدروژن، ستریماید، الکل خالص، سالین هیپرتونیک و نیترات نقره به عنوان مواد پروتواسکولیسیدال بکار رفته ولی عوارض جانبی حاصله از آنها، استفاده از مواد مذکور را محدود ساخته است (۵۵، ۵۷). با توجه به مشکلات مذکور، در حال حاضر استفاده از مواد دارویی طبیعی به عنوان جایگزین مواد مصنوعی فوق مورد توجه قرار گرفته است (۵۸). چنانکه مودنی و همکاران در سالهای ۲۰۱۰، ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲ به ترتیب سیر (*Allium sativum*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*) و زنیان (*Trachyspermum ammi* L.) و همچنین المالکی، Maggiore، زیبایی و همکارانشان در سالهای ۲۰۰۸، ۲۰۱۱ و ۲۰۱۱ به ترتیب گیاهان گشنیز (*Coriandrum sativum*)، دو گونه از گیاه نعناع (*Mentha.pulegium*)

و *Mentha.piperita*)، گیاهان مرزه (*Satureja khuzestanica*) و زیتون (*Olea europaea*)

را به عنوان مواد پروتواسکولیسیدال گزارش نموده اند و برای اطمینان از بی ضرر بودن آنها برای بدن، تحقیقات بیشتر در مورد گیاهان مذکور را پیشنهاد نموده اند (۵۷، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴).

در تحقیق حاضر عصاره گیاهان دارویی از جمله تخم کدو، تنباکو، چای کوهی، مورد، کاکوتی، کافور و اسانس اسطوخودوس و دارچین که اثرات ضد کرمی، ضد تک یاخته ای، ضد حشره ای و ضد قارچی آنها طبق مطالعات انجام شده در گذشته مشخص شده (۶۹ تا ۱۱۹)، به عنوان مواد پروتواسکولیسیدال مورد آزمایش قرار گرفت.

در مطالعات گذشته مشخص شده که کیست هیداتیک با ترکیبات و ترشحات خود پاسخ های متفاوتی از سلول های ایمنی را ایجاد می کند و ترجیحا سلول های غیر عملکردی موثر بر تخریب انگل را فعال نموده و با انحراف و همینطور مهار برخی از پاسخ های ایمنی، شرایط را برای ایجاد عفونت های مزمن فراهم می آورد. یکی از این مکانیسم ها که در فرار انگل از پاسخ های ایمنی موثر است تغییر بالانس پاسخ ایمنی از Th_1 به Th_2 می باشد (۳۸، ۳۹). تحقیقات متعددی نشان داده اند که پاسخ ایمنی موثر در مهار انگل، فعال شدن سلول های Th_1 و دیگر سلول های کارگزار از قبیل سلول های دندریتیک های به عنوان سلول های عرضه کننده آنتی ژن یا APC می باشد. سلول های عرضه کننده آنتی ژن گروهی از سلول های حرفه ای هستند که آنتی ژن را جذب کرده و آنها را در ساختار ویژه ای (شکاف مولکول MHCII) به سلول های T عرضه می کنند. اگر چه سلول های زیادی توانایی انجام این کار را دارند ولی اصطلاح "سلول های عرضه کننده آنتی ژن حرفه ای" به عرضه کننده های موثر آنتی ژن یعنی سلول های دندریتیک، سلول های B و ماکروفاژها گفته می شود (۴۳). "سیگنال دوم" که برای فعال شدن سلول های T ضروری است، بسیار موثر عمل می کنند. سلول های عرضه کننده آنتی ژن، در آغاز آنتی ژن را جذب کرده، پردازش نموده و در لیزوزوم، آنها را به صورت پپتیدهای آنتی

ژنی درمی آورند. سپس قطعات آنتی ژن را در شکاف MHCII عرضه نموده که می توانند توسط سلول های T شناسایی شوند. عرضه آنتی ژن به وسیله APC در مسیر فعال شدن سلول های Th اولین گام ضروری است (۴۳).

نقش سلول دندریتیک در القای پاسخ ایمنی مهم است، چون سلول دندریتیک نابالغ سبب القای تولرانس ولی سلول دندریتیک بالغ سبب القای پاسخ ایمنی می شود. آنتی ژن باعث تحریک سلولهای دندریتیکی نابالغ شده که این امر باعث تغییرات عملکردی و فنوتیپی در سلولهای دندریتیکی می گردد که باعث شیفت کامل سلولهای دندریتیکی نابالغ از حالت گرفتن آنتی ژن به وضعیت سلول عرضه کننده آنتی ژن گردد. بلوغ سلولهای دندریتیکی در نهایت باعث مهاجرت آنها از بافتهای محیطی به ارگانهای لنفاوی می گردد (۴۴، ۴۵). سلول های دندریتیک، تقریباً در تمام بافت های محیطی قرار داشته و پاسخ گوی حملات التهابی و میکروارگانیزم های مهاجم هستند (۴۳). در یک تقسیم بندی، سلول های دندریتیک را به دو نوع لنفوئیدی و میلوئیدی متمایز می نمایند. سلول های دندریتیک لنفوئیدی با تولید فراوان سایتوکاین IL-12 سبب القا پاسخ ایمنی سلولی نوع Th₁ می شوند اما سلول های دندریتیک میلوئیدی سبب القای پاسخ ایمنی نوع Th₂ می گردند (۴۷، ۴۸).

تحقیقات زیادی نشان داده اند که پاسخ ایمنی علیه کیست هیداتید با فعال شدن هر دو بازوی پاسخ ایمنی Th₁ و Th₂ مطرح است ولی انگل می تواند با انحراف پاسخ های ایمنی در فازهای مختلف عفونت، راههای فرار از پاسخ های دفاعی را القاء می نماید (۴۲) و با توجه به اینکه یکی از راههای فرار انگل اکینوкокوس از پاسخ ایمنی مناسب، اختلال در بلوغ و عرضه آنتی ژن توسط سلول های دندریتیک و ایجاد یک پاسخ نامناسب ایمنی از نوع Th₂ می باشد لذا بر آن شدیم که در این تحقیق ابتدا اسکرین و شناسایی گیاهان داروئی که اثر پروتواسکولیسیدال دارند انجام شود و سپس اثرات

ایمونومدولاتوری گیاهان موثر بر پروتواسکولکس ها بر بلوغ سلول های دندریتیک مورد بررسی قرار

گیرد.

فصل دوم

مروری بر متون

گیاهان دارویی مورد آزمایش و بررسی های انجام شده بر روی آنها (تصویر شماره ۴):

کدوتنبیل [*Cucurbita pepo (pumpkin)*]

این گیاه از خانواده *Cucurbitaceae* بوده (۶۵) و با نام های کدو، قرع، یقطین (۶۶)، کدو تخمه کاغذی (۶۷) و کدو مسمائی شناخته می شود. گیاهی اساله، دارای ساقه خزنده می باشد و طول آن تا ۵ متری می رسد. برگهای این گیاه به شکل قلب، دندانه دار و گوشتی است. گیاه کدو در تمام مناطق ایران کشت می شود. دانه ها و میوه گیاه مذکور به عنوان دارو مورد استفاده قرار می گیرند. دانه گیاه کدو محتوی آلبومین، کوکوروبیتین، نوعی رزین و مواد دیگر می باشد. مغز دانه کدو دفع کننده کرم بوده و قسمت گوشت دار آن به عنوان ملین، مدر، مغذی، نرم کننده و رفع کننده یبوست و سوء هاضمه استفاده می شود (۶۶). همچنین این گیاه موجب دفع کرم کدو می گردد (۶۸).

نائینی و همکاران، سال ۱۳۸۷، در مطالعه ای اثر ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله کدو را روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش دیسک گذاری و انتشار در آگار، بررسی نمودند. آنها از داروهای آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده نمودند. نتایج نشان داد که ۱۶ گیاه از ۵۰ گیاه مورد مطالعه دارای فعالیت ضد کاندیدایی بودند ولی بقیه گیاهان از جمله گیاه کدو، فاقد هر گونه اثر ضد قارچی قابل توجه بر علیه کاندیدا بود (۶۹).

در سال ۱۹۹۹ توسط Hammer و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره ۵۲ گیاه از جمله کدو مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده شد که این گیاه در بالاترین غلظت نیز اثر چندانی در کشندگی میکروارگانیسم ها ندارد (۷۰).

سال ۱۹۹۹ در ایتالیا توسط *Guarrera*، تعداد ۵۱ گیاه ضد انگل شناسایی شد که گیاه کدو از آن جمله بود. در طی این تحقیق مشاهده شد که این گیاه باعث دفع انگل تنیا و اکسیور از روده می شود. او با بررسی مطالعات دیگر دریافت که به احتمال زیاد، اثر ضد انگلی کدو به دلیل وجود ترکیب کوکوریتین در گیاه مذکور می باشد (۷۱). *Lans* و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ در تحقیقات خود نتایجی مشابه *Guarrera* به دست آوردند (۷۲).

طی یک مقاله مروری، در سال ۲۰۰۷ در هند، توسط *Mali*، اثر گیاهان دارویی از جمله کدو روی انگلها مورد بررسی قرار گرفت و اثر ضد سستودی، ضد ترماتودی و ضد نماتودی آن را گزارش کردند (۷۳).

تنباکو (*Nicotina tabacum*)

این گیاه از خانواده *Solanaceae* بوده و با نام های رایج توتون یا دخان نیز شناخته می شود. گیاهی یکساله به ارتفاع ۱-۲ متر، دارای برگهای سبز پهن، بزرگ، بیضوی و گلهای قرمز است. این گیاه در مناطق مختلف ایران از جمله خراسان، جنوب شرق بلوچستان، کاشان، اصفهان و استان فارس وجود دارد. از برگ آن جهت مصارف درمانی استفاده می گردد.

ترکیبات شیمیایی از جمله رزین، صمغ، املاح پتاسیم، اسیدهای آلی مختلف و نیکوتین سولفات در این گیاه وجود دارد که مهمترین آنها نیکوتین سولفات بوده و دارای اثر ضد نماتودی می باشد. پماد حاصل از توتون برای رفع کچلی، سودا، دفع شپش و اولسر عفونی به کار می رود. شیر تنباکو که از خیساندن برگ گیاه به دست می آید، جهت از بین بردن حشرات و آفات گیاهی استفاده می شود (۶۶) همچنین این گیاه به عنوان ضد التهاب و ضد کرم نیز کاربرد دارد (۷۴).

در پاکستان توسط *Zaman* و همکاران اثر عصاره آبی چند گیاه دارویی از جمله برگ های گیاه تنباکو روی لارو کنه *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* بررسی شد. مخلوط عصاره

گیاهان مورد نظر با آب دو بار تقطیر به نسبت های 0.78125 ، 1.5625 ، 3.125 ، 6.25 ، 12.5 ، 25 و 50 رقیق شده و به مدت 24 ساعت با لارو های 4 روزه کنه آنکوبه شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره ها، میزان مرگ کنه افزایش داشت بطوریکه در غلظت های 0.78125 mg/ml و 1.5625 mg/ml بین 15 تا 30 درصد، در غلظت 3.125 mg/ml حدود 50% و در غلظت های 6.25 mg/ml تا 50 به میزان 100% لاروها از بین رفتند. محققین با توجه به بررسی های گذشته احتمال دادند که ترکیبات شیمیایی گیاه مذکور از جمله آلکالوئید نیکوتین می تواند دلیل مرگ کنه ها باشد (۷۴).

Iqbal و همکاران در پاکستان، سال 2006 ، اثر عصاره برگ گیاه تنباکو را روی همونکوس یکی از انگل های گوارشی گوسفند مطالعه نمودند. آنها غلظت 25 mg/ml از عصاره گیاه مذکور را با تعدادی کرم در دمای $25-30$ درجه سانتی گراد نگهداری کرده و در مدت زمانهای 0 ، 1 ، 2 ، 3 و 6 ساعت تعداد انگل های زنده را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که با افزایش زمان مواجهه، میزان مرگ انگل بالا می رود. چنانکه بعد از گذشت مدت 1 و 6 ساعت مواجهه، به ترتیب 60 و 100 درصد کرم ها از بین رفتند. دلیل اثر کشندگی عصاره گیاه مذکور را به ماده نیکوتین موجود در آن که یک محرک عصبی است نسبت دادند (۷۵).

بهمنی و همکاران در سال 1389 ، اثر عصاره متانولی گیاه تنباکو و داروهای ضد زالو (تریکلاندازول، لوامیزول، نیکلوزاماید، مترونیدازول) را روی گونه لیمناتیس نیلوتیکا مقایسه نمودند. آنها مشاهده کردند که عصاره گیاه مورد نظر با دوز 600 mg/ml در مدت زمان 17 دقیقه و داروهای تریکلاندازول، لوامیزول، نیکلوزاماید، مترونیدازول به ترتیب در مدت زمان های $11/66$ ، 7 ، $11/66$ و $11/54$ دقیقه باعث مرگ زالوها شدند. این گیاه در مقایسه با داروهای مورد استفاده بجز لوامیزول دارای اثر بیشتری روی زالوها بود که احتمالاً این اثر می تواند به دلیل وجود ماده نیکوتین در گیاه مذکور باشد (۷۶).

در سال ۱۳۸۷ شاد دل و همکاران اثر عصاره چند گیاه از جمله توتون را در کنترل کنه واروای زنبورعسل، مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی با غلظت ۲۰٪ از گیاه مذکور، کندوهای مورد آزمایش در طی یک دوره ۵ روزه اسپری شدند. در این تحقیق مشخص شد که متوسط درصد کاهش آلودگی در اثر تاثیر عصاره تنباکو ۸۳/۶٪ بود. نتایج نشان داد که گیاه مورد نظر بیشترین تاثیر را در کاهش درصد آلودگی کندوها داشت. توتون ممکن است به دلیل داشتن مواد موثر نیکوتین، نیکوتین^۱ و نیکوتیل لین^۲ باعث مرگ کنه ها شده باشد (۷۷).

در سال ۲۰۰۷ توسط Mali و همکارش در یک مطالعه مروری اثر گیاهان دارویی از جمله تنباکو روی انگلها بررسی شد. آنها مشاهده کردند که عصاره آبی و متانولی این گیاه دارای فعالیت ضد همونکلوس کونتورتوس بوده و گزارش نمودند که این اثر می تواند وابسته به میزان مواجهه انگل با عصاره باشد (۷۳).

Lommatzsch و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر دود سیگار را بر روی سلول های دندریتیک مجاری هوایی بررسی نمودند. آنها مایع برونکوالوئولار گروهی از افراد سیگاری را، در دو زمان مشخص (۴ ساعت بعد از نکشیدن سیگار و ۴ ساعت بعد از کشیدن تعداد ۸ عدد سیگار) برداشت نموده و با استفاده از روش فلوسایتومتری سلول های دندریتیک میلوئیدی و پلاسماسیتوئیدی موجود در مایع لاواژ برونکوالوئولار (BALF) و خون را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که تعداد سلولهای ماکروفاژ، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و دندریتیک پلاسماسیتوئیدی در مواجهه با سیگار تغییری نداشت ولی افزایش شدیدی در تعداد سلولهای دندریتیک میلوئیدی در مایع برونکوالوئولار به همراه کاهش این سلول ها در خون مشاهده شد. همچنین در مواجهه با سیگار بیان آنتی ژن توسط مولکول های سطحی سلول های دندریتیک خون افزایش یافت ولی این رسپتورها در دندریتیک های ریوی با کاهش بیان

¹ -Nicotene

² -Nicotelline

مواجه بودند. در این تحقیق بیان کموکاین رسپتور ۵ (CCR5) روی سلول های دندریتیک میلوئیدی در BALF به طور قابل توجهی در مواجهه با سیگار کاهش یافت. محققان دریافتند که استنشاق نیکوتین موجود در دود سیگار به صورت سریع و انتخابی سلولهای دندریتیک میلوئیدی مسیر هوایی انسان را درگیر کرده و منجر به واکنش های اکتسابی سیستم ایمنی می شود (۱۳۵).

Yanagita و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان تنظیم بلوغ سلول های دندریتیک را در حضور نیکوتین و لیپوپلی ساکارید باکتری *Porphyromonas gingivalis* بررسی نمودند. نیکوتین یکی از بیشترین ترکیبات موجود در سیگار است که روی پاسخ های سیستم ایمنی موثر می باشد. سلول های دندریتیک مشتق شده از منوسیت های خون محیطی، در دو گروه با نیکوتین و بدون نیکوتین در نظر گرفته شده و به همراه و یا بدون لیپوپلی ساکارید باکتری مورد آزمایش به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که نیکوتین باعث افزایش بیان مارکرهای CD40، CD80 و CD86 و کاهش بیان مولکول HLA-DR در روی سلول های دندریتیک شد. در این مطالعه میزان IL-10، IL-12، TNF- α و INF- γ و همچنین تکثیر سلول های T کاهش یافته ولی میزان IL-5 افزایش داشت. آنها دریافتند که در حضور ماده نیکوتین پاسخ ایمنی به سمت Th₂ پیش می رود (۱۳۶).

گیاه تنباکو دارای مواد سمی نیکوتین، نیتروزامین ها^۱، هیدروکربن های پلی سیکلیک آروماتیک^۲ و فرمالدئید می باشد. در سال ۲۰۱۴ Khanna و همکاران سمیت ژنی^۳ ذرات تنباکو را مورد مطالعه قرار دادند. آنها میزان CA^۴ در کشت لنفوسیت های خون محیطی کارگران یک کارخانه را بررسی نمودند.

^۱ -Nitrosamines

^۲ -Polycyclic aromatic hydrocarbons

^۳ -Genotoxicity

^۴ -Chromosome Aberration

CA در افراد مورد مطالعه به طور معنی داری افزایش یافت. در این تحقیق مشاهده شد که آسیب به DNA با افزایش دوره مواجهه با تنباکو بیشتر می شود (۱۳۷).

Ghazavi و همکاران در سال ۲۰۱۳ میزان سیتوکاین های سرم افرادی که به طور مداوم تریاک مصرف می کنند را مورد بررسی قرار دادند. با استفاده از روش الایزا مشاهده شد که میزان $IFN-\gamma$ ، IL-10 و IL-17 در سرم افراد مورد مطالعه به طور معنی داری افزایش یافت. با توجه به تحقیق فوق، میزان مصرف طولانی و روزانه ماده مخدر با افزایش غلظت سیتوکاین های سرم $(IFN-\gamma)Th_1$ ، $(IL-10)Tr_1$ و $(IL-17)Th_{17}$ مرتبط می باشد. این مطالعه نشان می دهد که افزایش اینترلوکین ۱۰ باعث اثر ایمنومودولایتوری این ماده می گردد (۱۳۸).

چای کوهی (*Hypericum perforatum*)

این گیاه با نام های دیگری از جمله گل راعی، هزارچشم، علف چای و هوفاریقون شناخته می شود. گیاهی پایا به ارتفاع ۹۰-۲۵ سانتی متر با برگ های متقابل و بیضوی است. چای کوهی در ایران، در نواحی مختلفی از جمله البرز، کرج، ارومیه، گیلان (لاهیجان)، خراسان، بروجرد و نهاوند می روید. این گیاه دارای ترکیباتی از جمله تانن^۱، مقدار کمی اسانس فرار، فلاونوئید^۲ و رنگدانه است. از سر شاخه های گلدار تازه یا خشک و نیز گلهای تازه چای کوهی برای مصارف دارویی استفاده می شود. این گیاه دارای اثر ضد التهاب، ضد کرم و ضد اسهال (۶۶)، کاهش دهنده سیتوکاین های سیستم ایمنی و مهار پروتئین کیناز C می باشد (۱۳۹).

نائینی و همکاران در سال ۱۳۸۷ طی یک مطالعه اثرات ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله چای کوهی را روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش دیسک

^۱-Tannins

^۲-Flavonoids

گذاری و انتشار در آگار، مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق داروهای آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آنها تشکیل منطقه عدم رشد قارچ در پیرامون دیسک ها را بررسی نموده و مشاهده کردند که ۱۶ گیاه از ۵۰ گیاه مورد مطالعه دارای فعالیت ضد کاندیدایی بود. البته در این تحقیق گیاه چای کوهی فاقد هر گونه اثر ضد قارچی قابل توجه بر علیه کاندیدا آلبیکنس بود (۶۹).

سرشتی و همکاران در سال ۱۳۸۹ تأثیر عصاره سرشاخه های هوایی گیاه چای کوهی را روی انگل تریکوموناس واژینالیس بررسی نمودند. آنها غلظت های $\mu\text{l/ml}$ ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ از عصاره گیاه را به همراه محیط کشت TYI-S-33 و سوسپانسیون حاوی تک یاخته تریکوموناس در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت آنکوبه نمودند. داروی مترونیدازول به عنوان شاهد مثبت و محیط کشت TYI-S-33 به تنهایی، به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تک یاخته ها در مجاورت مترونیدازول به طور کامل از بین رفته اما در غلظت های پائین عصاره ($\mu\text{l/ml}$ ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰) به میزان ۱۰۰٪ زنده ماندند ولی در غلظت $\mu\text{l/ml}$ ۱۰۰۰ حدود ۹۳٪ انگل ها از بین رفت. در این تحقیق گیاه مورد نظر در مقایسه با مترونیدازول نتایج مورد انتظار و مناسبی روی انگل نداشت و طبق نظر محققین شاید در ترکیب با سایر گیاهان بتواند اثر بیشتری روی انگل داشته باشد (۷۸).

در سال ۲۰۱۰ توسط Altundag و همکاران تعداد ۶۲ خانواده از گیاهان دارویی را مورد بررسی قرار دادند و چای کوهی را به عنوان یک گیاه آنتی سپتیک، مسکن و کمک به درمان زخمها گزارش نمودند (۷۹).

طی یک مقاله مروری Cakilcioglu و همکاران در طی سالهای ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۰ اثر درمانی گیاهان بومی منطقه ای از ترکیه را مطالعه نموده و مشاهده کردند که گیاه چای کوهی به عنوان ضد التهاب، ضد کرم، ضد اسهال توسط افراد بومی مورد استفاده قرار می گرفت (۸۰).

Mozaffari و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر ضد التهابی و آنتی اکسیدانی عصاره گیاه چای کوهی را روی سندرم روده تحریک پذیر^۱ در موش صحرایی بررسی نمودند. این سندرم یک بیماری اختلال در حرکت روده است که با انفیلتراسیون سایتوکاین ها و مدیاتور هایی از جمله نوتروفیل ها، میلوپراکسیداز، $TNF-\alpha$ و پراکسید چربی به داخل روده در ارتباط می باشد. از عصاره گیاه فوق به میزان ۱۵۰ mg/kg، ۳۰۰ و ۴۵۰ به مدت ۲۶ روز به موش ها خورانده شد. آنها مشاهده نمودند که در حضور گیاه چای کوهی $TNF-\alpha$ ، میلوپراکسیداز و اکسیداسیون چربی در همه غلظت ها در بافت کولون به میزان قابل توجهی کاهش یافت. این گیاه همچنین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بود. طبق این تحقیق، گیاه مذکور بدون ارتباط با غلظت، دارای اثر ضد التهابی بوده که ممکن است از طریق مهار میلوپراکسیداز و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی اعمال شود. احتمالاً ترکیباتی از جمله هیپرسیسین، فلاونوئیدها، تانن ها و هیپرفورین باعث اثرات فوق در این گیاه باشند (۱۴۰).

IL-12 یک سایتوکاین هترو دایمر بوده که توسط ماکروفاژ و سایر سلول های عرضه کننده آنتی ژن تولید می شود. این سایتوکاین اعمال بیولوژیکی خود را از طریق تولید اینترفرون گاما و پیشبرد پاسخ ایمنی به سمت Th_1 انجام می دهد. میزان بالایی از این سایتوکاین در بیماران آرتریت روماتوئید وجود دارد. از طرفی هیپرسیسین یکی از مواد فعال در گیاه چای کوهی می باشد که اثرات مختلفی از جمله التیام زخم ها، ضد روماتیسمی، ضد افسردگی، ضد ویروسی، ضد سرطانی و ضد التهابی دارد. Kang و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر مهاری ماده هیپرسیسین را در تولید IL-12 در ماکروفاژها بررسی نمودند.

^۱ -Irritable bowel syndrome

در این مطالعه ماکروفاژهای طحال موش با لیپوپلی ساکارید تحریک شده و در حضور غلظت های $0.1 \mu\text{g/ml}$ ، 1 ، 5 و 10 از ماده هیپرسیسین آنکوبه شدند. محققین مشاهده کردند که این ماده به طور معنی داری تولید سایتوکین IL-12 را مهار نمود، این کاهش در غلظت های $0.1 \mu\text{g/ml}$ ، 5 و 10 و به صورت وابسته به دوز مشاهده شد. همچنین این ماده دارای اثر مهاري در تنظيم فعاليت پروموتور IL-12 بوده و احتمال داده می شود که تنظيم منفي روی تولید IL-12 در سطح نسخه برداری داشته باشد. البته ماده مذکور اثر سيتوتوكسيك روی ماکروفاژها نداشت. این محققین دلیل برخی فعاليت های بيولوژيكي از جمله اثر ضد روماتیسمی گیاه چای کوهی را به وجود ترکیب هیپرسیسین می دانند (۱۴۱).

مورد (*Myrtus communis*)

از نامهای رایج این گیاه، آس بستانی و مورت را می توان نام برد. گیاه مورد، درختچه ای به ارتفاع ۳-۱ متر ، همیشه سبز و معطر با ساقه ای منشعب و پر شاخه می باشد. برگهای آن سرنیزه ای، نوک تیز، چرمی و پایا است. برگ و میوه آن، جهت مصارف داروئی استفاده می شود. این گیاه بومی نواحی مدیترانه می باشد (۶۶). گیاه مورد در شمال ایران (منجیل، گیلان بین هرزویل و منجیل)، بخش مرکزی (لاب سفید در بختیاری و دره رودخانه)، خراسان، غرب ایران (شهبازان، شهبوم و گیلانغرب سرآب)، جنوب شرقی (کرمان، نودان در فارس، کازرون، مهارلو در شیراز، نیریز به طرف شیراز، سروستان، فسا، ممسنی، بخون نزدیک حاجی آباد و بندرعباس) دیده می شود (۸۱). این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی از جمله مواد رزینی و تلخ، کامفن، تانن، قند و اسیدهای آلی، اکالیپتول، میرتول، کامفور، ژلومیرتول ، آلفا پینن ، ۸-۱ سینئول ، لینالول و لینالیل استات می باشد. گیاه مورد به عنوان ضد التهاب و ضد قارچ کاربرد داشته و همچنین در درمان بیماری های برونشیت، سینوزیت، اوتیت و

اسهال مورد استفاده قرار می گیرد (۶۶). همچنین دارای خواص ضد عفونی کننده، ضد ویروس و باکتری است (۸۲).

براتی و همکاران در سال ۱۳۸۸، اثر ضد لیشمانیایی چند گیاه دارویی از جمله عصاره مورد را با داروی تارتارامتیک (سه ظرفیتی آنتیموان) به روش رنگ سنجی مقایسه نمودند. آنها غلظت های $31/25 \mu\text{g/ml}$ ، $62/5$ ، 125 ، 250 ، 500 و 5000 عصاره و دارو را به همراه پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت آنکوبه کردند. میزان جذب نوری رنگ (رنگ حاصل از احیا نمک تترازولیوم به محصول رنگی فورمازان توسط انگل) توسط دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. عصاره گیاه مورد آزمایش در غلظت $31/25 \mu\text{g/ml}$ روی انگل بی تأثیر بوده ولی در غلظت های دیگر اثرش مشابه داروی کنترل بوده و در غلظت $5000 \mu\text{g/ml}$ حتی بیشتر از دارو باعث از بین رفتن پروماستیگوت های لیشمانیا شد و مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره ها و داروی مورد نظر، اثر مهاری روی پروماستیگوت های انگل افزایش می یابد. همچنین مشاهده شد که گیاه مورد نسبت به بقیه عصاره ها اثر قوی تری روی انگل داشت (۸۳).

در سال ۱۳۸۵ اثر عصاره متانولی چند گیاه دارویی از جمله مورد روی تریکوموناس و اژینالیس توسط ضیایی هزارجریبی و همکاران بررسی شد. این محققین انگل را در محیط دورسه، کشت دادند و سپس به چند لوله آزمایش حاوی مترونیدازول، دی متیل سولفوکساید و عصاره گیاه با غلظت های $0/01$ و $0/1$ درصد به طور جداگانه از محیط کشت حاوی تریکوموناس افزوده و آنها را در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت آنکوبه نمودند. آنها مشاهده کردند که این تک یاخته در مجاورت مترونیدازول و DMSO (دی متیل سولفوکساید) به ترتیب بعد از 1 و 6 ساعت از بین رفت در حالیکه عصاره گیاه مورد در غلظت $0/1$ ٪ در ابتدای کشت و در غلظت $0/01$ ٪ یک ساعت بعد انگل را از بین

برد. محققین احتمال دادند که اثر کشندگی این گیاه به دلیل ترکیبات شیمیایی خاص موجود در آن باشد (۸۲).

در مطالعه ای شکیبایی و همکاران اثر ضد پلاسمیدی پنج عصاره گیاهی از جمله مورد را بر روی سوشهای مقاوم کلبسیلا پنومونیه بررسی نمودند. آنها سوش های باکتری را با غلظت های سریالی 0.001 mg/ml تا 0.5 از عصاره گیاهان مذکور در دمای 37°C درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت آنکوبه کردند. در بررسی مورفولوژیک باکتری ها با میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شد که در حضور عصاره مذکور، اندازه باکتری کوچکتر شده و کپسول آن نیز از بین رفت. میزان MIC^1 عصاره در گونه های مختلف کلبسیلا بین 0.1 mg/ml تا 0.5 گزارش شد که نشانه موثر بودن گیاهان مورد مطالعه روی این باکتری می باشد البته این گیاه هیچگونه اثر ضدپلاسمیدی نداشت (۸۴).

در سال ۲۰۰۴ فعالیت ضد باکتریایی ۷۹ گیاه داروئی از جمله گیاه مورد توسط شهیدی بجنورد بررسی شد. در این تحقیق تعدادی از باکتری های پاتوژن و غیر پاتوژن با غلظت های مختلف (0.31 mg/ml تا 20) از عصاره گیاهان مذکور به مدت ۲۴ ساعت به ترتیب در دمای های 37°C و 29°C درجه سانتیگراد آنکوبه شدند. کمترین و بیشترین غلظت کشندگی در گیاه مذکور به ترتیب 0.62 mg/ml و 20 mg/ml گزارش شد. میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری ها در مجاورت عصاره مورد نظر با غلظت های 5 mg/ml ، 10 و 20 به ترتیب 9 mm ، 23 و 26 گزارش گردید. میزان غلظت عصاره ها در از بین بردن باکتری ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. طبق نظر برخی محققین هنگامی که اثر تعدادی از گیاهان در مقابل بسیاری از باکتری ها بررسی می شود کیفیت نتایج به طبقه بندی اثر گیاهان و حساسیت میکروارگانیسم ها کمک فراوانی می کند (۸۵).

¹ -Minimum Inhibitory Concentration

شاگرمی و همکاران اثر مهارکنندگی اسانس ۵ گونه گیاه دارویی از جمله مورد را بر روی نحوه رشد میسلیمی چهارگونه قارچ بیماریزا مورد بررسی قرار دادند. گونه های قارچی در حضور اسانس گیاه مذکور با غلظت های سریالی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد آنکوبه شدند. نتایج نشان داد که اثر مهار کنندگی اسانس روی قارچ *Rhizoctonia solani* به میزان ۸۵/۱۸٪ و برای قارچ های *Pythium ultimum* ، *Fusarium oxysporum* و *Gaeumannomyces graminis* به میزان ۱۰۰٪ بود. بیشترین تاثیر اسانس گیاه در حداکثر غلظت مورد استفاده گزارش شد و مشاهده گردید که قارچ های مورد بررسی در برابر اسانس های مختلف گیاهی، حساسیت متفاوتی داشتند (۸۶).

راد و همکاران در سال ۱۳۸۹ تاثیر درمانی محلول گیاهی مورد و پماد تریامسینولون موضعی داخل دهانی را با هم مقایسه کردند. در این مطالعه تعداد ۱۰۰ بیمار مبتلا به بیماری ضایعه آفتی داخل دهانی انتخاب و در دو گروه دسته بندی شدند. یک گروه از بیماران با محلول ۵٪ مورد ۵ بار در روز و هر بار ۱۰ قطره به مدت ۳۰-۲۰ ثانیه و گروه دیگر با داروی تریامسینولون درمان شدند. آنها مشاهده کردند که در طول مدت ۵ روزه پیگیری درمان، بین دو گروه دارویی مورد استفاده، تفاوت معنی داری وجود نداشت و گیاه مورد نیز مانند تریامسینولون دارای اثر مناسبی روی ضایعات داخل دهانی بود (۸۷).

شیرازی و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره گیاهانی از جمله مورد را روی هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تعدادی از آنها بخصوص عصاره گیاه مورد دارای اثر مهارتی مناسبی روی رشد باکتری بودند (۸۸).

در ترکیه Sen و همکاران اثر عصاره آبی ۱۰ نوع گیاه از جمله گیاه مورد را روی چند گونه قارچ عامل فساد چوب بررسی نمودند. آنها در روی محیط کشت حاوی قارچ، دیسک های کاغذی آغشته به گیاه مذکور (غلظت ۳/۵ml در هر دیسک) را قرار داده و به مدت ۳ هفته در دمای 26 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۰٪ آنکوبه نمودند. نتایج به صورت عدم رشد میسلیم (+++++) ۲۵٪ رشد

(+++)
۵۰٪ رشد(++)، ۷۵٪ رشد(+) و ۱۰۰٪ رشد(-) در پتری دیش گزارش گردید. در این تحقیق مشاهده شد که از بین عصاره گیاهان مورد آزمایش، گیاه مورد اثر ضد قارچی متوسطی داشت که این اثر از + تا ++++ برای گونه های مختلف قارچی متغیر بود و حاکی از اثر متفاوت این گیاه روی میکروارگانیسم ها می باشد (۸۹).

Al Laham و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر ضد باکتری عصاره های گیاهانی چون مورد را روی *Aeromonas hydrophila* (عامل بیماری در ماهی) بررسی نمودند. در این آزمایش باکتری با عصاره های مورد نظر در غلظت ۶۶ mg/ml به مدت ۱۷ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد آنکوبه شدند. عصاره ها دارای اثرات متفاوتی روی باکتری مورد نظر بود. آنها مشاهده کردند که میزان حساسیت باکتری به این گیاه ۹۶/۸۹٪ بود. در این تحقیق با بررسی اثر آنتی بیوتیک ها روی باکتری مورد آزمایش مشاهده شد که آن باکتری به بسیاری از آنتی بیوتیکها بجز آمیکاسین مقاوم می باشد و استفاده از گیاهان بجای مواد شیمیایی برای از بین بردن این باکتری پیشنهاد گردید (۹۰).

اثر حشره کشی اسانس چند گونه گیاهی از جمله گیاه مورد در مقابل لارو پشه آندس آلبوپیکتوس توسط Conti و همکاران بررسی شد. میزان ترکیبات اسانس گیاهان مورد نظر با روش کروماتوگرافی گازی قبل از شروع آزمایش تعیین شد. از گیاه مذکور ترکیبات مهمی چون آلفا پینن ۵۱/۸٪، لیمونن ۷/۶٪، اکالیپتول ۲۴/۶٪ و بسیاری مواد دیگر آنالیز شد. لارو حشره فوق با اسانس گیاه در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ ppm به مدت ۲۴ ساعت آنکوبه شد. اثر کشندگی گیاه مذکور با غلظت های ذکر شده به ترتیب صفر، ۳/۳، ۶/۷، ۱۰، ۱۵ و ۳۶/۷ درصد گزارش شد. این گیاه در غلظت بین ۲۵۰ ppm تا ۳۰۰ باعث از بین رفتن ۵۰٪ از لاروها گردید. مشاهده شد که در طی این آزمایش، شدت مرگ و میر لاروها کاملاً وابسته به غلظت اسانس می باشد (۹۱).

Fani و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر اسانس گیاه مورد را روی باکتری های پاتوژن ایزوله شده از دهان مطالعه کردند. آنها غلظت های $3/9 \mu\text{g/ml}$ تا ۱۰۰۰ تهیه شده از اسانس را با پاتوژن های مورد مطالعه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در حضور ($5\% \text{CO}_2$) آنکوبه کردند. قطر هاله عدم رشد غلظت های مختلف اندازه گیری شد و قطر بیشتر از ۶ mm را حساس گزارش نمودند. در این تحقیق مشاهده شد که استرپتوکوک پیوژن در غلظت $7/8 \mu\text{g/ml}$ و بقیه پاتوژن ها در غلظت های $125 \mu\text{g/ml}$ تا ۱۰۰۰ به طور کامل از بین رفتند. طبق این تحقیق احتمالاً اثر گیاه مورد روی پاتوژن های دهانی به دلیل وجود ترکیباتی از جمله آلفا پینن، لیمونن، ۸-۱ سینئول، تانن، فلاونوئیدها و رودومیرتون باشد (۹۲).

در سال ۱۳۸۷ توسط نائینی و همکاران، اثرات ضد کاندیدیاسی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله مورد روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. آنها از بعضی داروهای ضد قارچی از جمله نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده کردند و هاله تشکیل شده در اطراف دیسک را بصورت شاخص اثر گیاه و دارو تعیین کرده و مشاهده نمودند که عصاره گیاه مذکور نسبت به داروهای ضد قارچی اثرات بیشتری داشت (۶۹).

در مطالعه ای Maxia و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر مهاری اسانس روغنی گیاه مورد را روی التهاب گوش در موش صحرایی بررسی نمودند. آنها مشاهده کردند که اسانس گیاه مذکور میزان $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 را در سرم و همچنین ادم گوش و فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز را به طور قابل توجهی کاهش داد. با توجه به این نتایج می توان گفت که اسانس گیاه مورد باعث کاهش مهاجرت لکوسیتها به بافت آسیب دیده شده و دارای اثر ضد التهابی می باشد (۱۴۲).

طی مطالعه ای در سال ۲۰۱۴، Bouzabata و همکاران اثر ضد التهابی اسانس روغنی گیاه مورد را ارزیابی نمودند. ترکیباتی از جمله آلفا پینن، ۸-۱ سینئول، لینالول و لینالیل استات توسط روش

کروماتوگرافی از این گیاه آنالیز شد. از غلظت های ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴، ۱/۵ و ۲/۵ از اسانس در بررسی ویابیلیتی ماکروفاژهای تحریک شده با لیوپیلی ساکارید استفاده گردید و مشاهده شد که غلظت های ۰/۰۸ mg/ml تا ۰/۶۴ اثر سیتوتوکسیکی نداشتند ولی در غلظتهای ۱/۵ mg/ml و ۲/۵ به ترتیب به میزان ۲۰/۴۴ و ۵۹/۶۷ درصد از سلول ها زنده ماندند. اسانس مورد نظر به طور قابل توجهی در غلظت ۰/۶۴ mg/ml تولید نیتریک اکسید (ماده پیش التهابی) توسط ماکروفاژ را مهار نمود که البته این کاهش تولید با غلظت رابطه مستقیم داشت. اثرات ذکر شده احتمالاً با ترکیبات لینالول و لینالیل استات موجود در گیاه مرتبط باشد. گیاه مذکور در غلظت های بالاتر از ۱/۵ mg/ml برای سلول های کراتینوسیت پوست، هپاتوسیت ها و سلول های اندوتلیال ریوی دارای اثر سیتوتوکسیک بود (۱۴۳).

Hayder و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر آنتی اکسیدانی و آنتی ژنوتوکسیک دو ماده میریستین-۳-او-گالاکتوزید^۱ و میریستین-۳-او-رامنوزید^۲ از گیاه مورد را بررسی نمودند. این دو ماده از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه مذکور می باشند. آنها مشاهده کردند که هر دو ماده در غلظت ۱۰۰ µg/ml به ترتیب به میزان ۵۷ و ۵۹ درصد اثر مهاری روی فعالیت گزانتین اکسیداز^۳ داشتند. همچنین این مواد باعث مهار اکسیداسیون چربی با IC₅₀ به ترتیب ۱۶۰ µg/ml و ۲۲۰ بودند. میریستین-۳-او-رامنوزید با IC₅₀ به میزان ۱/۴ µg/ml رادیکال های آزاد 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl را از بین برد. در این تحقیق مشاهده شد که ترکیبات فوق اثر سیتوتوکسیک روی سلول های حاصل از سرطان CML^۴ داشته و همچنین در تنظیم الگوی بیان ژنهای درگیر در استرس های اکسیداتیو، ترمیم آسیب های DNA و آپوپتوز موثر بودند. محققین دریافتند که گیاه مورد با وجود

^۱ -Myricetin-3-o-galactoside

^۲ -Myricetin-3-o-rhamnoside

^۳ -Xanthine oxidase

^۴ -Inhibitory concentration growth of 50%

^۵ -Chronic Myelogenous Leukemia

دو ترکیب ذکر شده در برگ خود می تواند در مقابل آسیب های اکسیداتیو و ژنوتوکسیک موثر باشد (۱۴۴).

کاکوتی (*Ziziphora tenuior*)

این گیاه از خانواده نعنائیان^۱ بوده و دارای جنس هایی از جمله کاکوتی^۲، آویشن^۳، نعناع^۴، اسطوخودوس، مرزنجوش^۵ و مریم گلی^۶ می باشد (۹۳). جنس کاکوتی دارای ۴ گونه *Z. tenuior* و *Z. persica*، *Z. capitata*، *Z. clinopodioides* است. گیاه مذکور در شمال ایران، افغانستان، عراق و طالش رشد می کند. از برگ، گل و ساقه آن جهت مصارف درمانی استفاده می شود. گیاه کاکوتی به عنوان ضد عفونی کننده و همچنین درمان دیسانتري، عفونت های رحمی و بیماری های تب دار استفاده می شود. ترکیبات شیمیایی آن حاوی موادی از جمله پولگون (۰/۸۷٪)، تیمول (۴/۳٪)، پیپریتون (۰/۱۹/۱۲٪)، متا-۲-انتول (۰/۵/۳۱٪)، کارواکرول (۰/۵/۱۰٪)، متون (۴/۴۶٪) و نئومتون (۰/۴/۷۸٪) می باشد (۹۴).

در سال ۲۰۱۳ در ایران، توسط طباطبایی یزدی و همکاران اثر آنتی میکروبیال گیاهانی از جمله کاکوتی، آویشن شیرازی و گونه ای از نعناع روی اشرشیا کلی و استافیلوکوک اورئوس بررسی شد. در این مطالعه غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد از عصاره گیاهان را به روش دیسک دیفیوژن با باکتری های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد آنکوبه شده و مشاهده گردید که قطر هاله عدم رشد گیاه کاکوتی در مقابل استافیلوکوک در غلظت های ذکر کرده به ترتیب mm ۹/۱، ۱۱/۷، ۱۳/۲ و ۱۶/۴ و در مقابل اشرشیا کلی به ترتیب mm ۶/۶، ۷/۹، ۱۱ و ۱۲/۷ بود. آنها

^۱ -Lamiaceae

^۲ - Ziziphora

^۳ -Thymus

^۴ -Mentha

^۵ -Origanum

^۶ -Salvia

دریافتند که هر چه غلظت بیشتر می شود اثر ممانعت از رشد گیاهان نیز بیشتر خواهد شد و همچنین نوع میکروارگانیسم و گونه گیاهی نیز در میزان اثر گذاری عصاره مهم می باشد بطوریکه اثر باکتری کشی گیاه آویشن بالاتر از بقیه گیاهان بود. همچنین استافیلوکوک اورئوس نسبت به گیاهان حساس تر بود. در این مطالعه محققین دلیل اثرات گیاهان مورد نظر را وجود ترکیب تیمول می دانند (۹۵).

در سال ۲۰۰۸ اثر اسانس گیاه کاکوتی کوهی در مقابل حشرات توسط وردیان ریزی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی ترکیبات موجود در گیاه مورد نظر مشخص شده که از مهمترین آنها می توان پولگون، پیریتون، کارواکرول، متون و نئومتون را نام برد. این محقق غلظت های $2 \mu\text{g/ml}$ تا 100 از اسانس را تهیه و لارو گونه ای از پشه های آنوفل و کولکس را به مدت ۲۴ ساعت با آنها آنکوبه نمود. در این تحقیق مشاهده شد که اسانس این گیاه دارای فعالیت لاروکشی بوده و میزان LC_{50} ^۱ برای لارو پشه آنوفل و کولکس به ترتیب $\mu\text{g/ml}$ $14/9$ تا $16/5$ و میزان LC_{90} ^۲ برای آنها $22/3$ - $28/6$ گزارش شد (۹۴).

سلطانی نژاد در سال ۲۰۱۱ اثر آنتی باکتریال اسانس گیاه کاکوتی کوهی را مورد مطالعه قرار داد. در این تحقیق توسط روش کروماتوگرافی گازی ترکیباتی از جمله پولگون ($34/4\%$)، پیریتون ($15/1\%$)، ۸- 1 سینئول ($6/5\%$)، نئومتون ($5/7\%$)، متون ($55/2$) و کارواکرول ($5/1\%$) از اسانس مورد نظر آنالیز شد. باکتری های پاتوژن انسانی شامل سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، انتروباکتر آئروژنز و استافیلوکوک اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز در مجاورت اسانس با غلظت های $0/125$ ، $0/25$ ، $0/5$ ، 1 و 2 به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. نتایج نشان داد که باکتری سودوموناس به اسانس مقاوم بود در حالیکه MIC بقیه باکتری های ذکر شده به ترتیب $0/125$ ، $0/25$ ، $0/125$ ، $0/25$ و باکتری لیستریا در مجاور اسانس به طور کامل

¹ -lethal concentration 50: kill 50% of population

² -lethal concentration 90: kill 90% of population

از بین رفت. در این آزمایش مشاهده شد که گونه های مختلف باکتری ها نسبت به غلظت های متنوع اسانس دارای پاسخ های متفاوتی بودند که این اختلاف ممکن است به دلیل تفاوت نوع ساختمان باکتری ها باشد. این محقق با توجه به مطالعات گذشته احتمال می دهد که اثر ضد باکتری این گیاه به دلیل وجود مقدار زیاد ماده پولگون باشد (۹۶).

مهربان سنگ آتش و همکاران در مطالعه ای اثر ضد میکروبی عصاره گیاه کاکوتی کوهی را بر باکتری های مولد فساد مواد غذایی از جمله انتروباکتر آئروژنز، اشرشیاکلی، کلبسیلا، سالمونلا، باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوک اورئوس و چند باکتری دیگر بررسی نمودند. آنها غلظت های سریالی از عصاره را بین $125 \mu\text{g/ml}$ تا 4000 تهیه و به همراه سوسپانسیون باکتری های مورد نظر داخل لوله آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C درجه سانتیگراد آنکوبه کردند. نتایج تحقیق نشان داد که MIC برای باکتری های گرم منفی و گرم مثبت به ترتیب $1000 \mu\text{g/ml}$ تا 2000 و $1000 \mu\text{g/ml}$ تا 4000 بود. در این مطالعه مشاهده شد که حساسیت باکتری های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت کمتر بوده که ممکن است به خاطر نوع غشای باکتری های گرم منفی باشد. آنها دریافتند که با توجه به اثر مناسب این گیاه روی باکتری ها احتمالا می توان آن را به عنوان ترکیب نگهدارنده طبیعی در فراورده های غذایی استفاده نمود (۹۳).

در سال ۱۳۸۷ نائینی و همکاران در مطالعه ای اثر ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله کاکوتی، آویشن شیرازی، آویشن کوهی را روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق از داروهای آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و تشکیل منطقه عدم رشد قارچ در پیرامون دیسک ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از گیاهان مورد آزمایش فقط ۱۶ گیاه دارای فعالیت ضد کاندیدایی بود. قطر هاله عدم رشد داروهای ضد قارچی به ترتیب 16 mm ، ۲۳ و ۲۵ گزارش شد در صورتی که در مورد اسانس، عصاره

های استونی و اتانولی گیاه آویشن شیرازی قطر هاله به ترتیب ۵۵mm، ۳۵، ۳۰ و آویشن کوهی ۵۵mm گزارش شد و گیاه کاکوتی اثر ضد قارچی نداشت. در این مطالعه مشاهده شد که اثر اسانس گیاهان بیشتر از عصاره آنها می باشد (۶۹).

در سال ۱۳۹۰ در ایران، اثر سمیت تنفسی اسانس گیاه آویشن شیرازی روی سوسک چهارنقطه ای حبوبات^۱، توسط گلستانی کلات و همکاران، در دمای $1^{\circ}\text{C} \pm 29$ و رطوبت نسبی $5 \pm 60\%$ بررسی شد. و با تعیین شاخص LC_{50} سمیت تنفسی اسانس ارزیابی گردید. مشاهده شد که این اثر در اسانس مذکور با غلظت و مدت زمان اسانس دهی همبستگی مثبت و معنی داری داشت. حشرات نر در مقایسه با جنس ماده حساسیت بیشتری به اسانس داشتند. LC_{50} به ترتیب برای جنس های نر و ماده به ترتیب 329 و $562 \mu\text{l/l}$ محاسبه گردید. نتایج نشان داد که این گیاه دارای اثر حشره کشی قابل توجهی بود (۹۷).

در سال ۲۰۰۶ زارعی محمودآبادی و همکاران اثر ضد قارچی عصاره های متانولی و اتانولی گیاه آویشن شیرازی را در مقابل ۱۴ گونه قارچی مطالعه نمودند. در این تحقیق عصاره متانولی اثر بیشتری روی گونه های قارچی داشت. محققین احتمال می دهند که این اثر به دلیل وجود ترکیبات تیمول و رزمارینیک اسید موجود در عصاره گیاه بوده که در حضور متانول کاملاً از گیاه خارج می شود (۹۸).

در سال ۱۳۸۷، اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی^۲ توسط امیری و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با دو روش DPPH (رادیکال های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل) و β -کاروتن-لینولئیک اسید انجام شد. در روش اول میزان فعالیت اتم های هیدروژن و الکترون عصاره و اسانس از طریق بی رنگ شدن آنها و در روش دوم فعالیت بیرنگ شدن بتا کاروتن با اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که در روش DPPH،

^۱ -Callosobruchus maculatus

^۲ -Z.clinopodioides

غلظتی از عصاره و اسانس که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فعالیت اکسیداتیو شد (IC₅₀) به ترتیب ۲۱/۴ و ۵۵/۳ $\mu\text{g/ml}$ درصد بود و می توان گفت که گیاه مذکور به طور قابل توجهی میزان رادیکال های آزاد DPPH را کاهش می دهد و البته اثر اسانس، بیشتر از عصاره می باشد. در روش β -کاروتن-لینولئیک اسید، میزان بازدارندگی عصاره و اسانس به ترتیب ۸۹/۳ و ۶۱/۶ درصد گزارش شد. اثرات آنتی اکسیدانی گیاه کاکوتی احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات پلی فنلها، فلاون ها و فلاونوئیدها باشد (۱۴۵).

نائینی و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر ایمونومدولاتوری عصاره گیاه کاکوتی را ارزیابی نمودند. آنها ماکروفاژهای پریتوئن موش را با غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ mg/ml از عصاره آبی گیاه فوق مواجه نمودند. مشاهده شد که ویابیلیتی و فعالیت قارچ کشی ماکروفاژ و میزان تولید ROS^۱ در غلظت های ۱۰ و ۲۰ mg/ml به طور قابل توجهی افزایش یافت ولی این عصاره اثری روی تولید نیتریک اکسید توسط ماکروفاژ نداشت. با توجه به مطالعه فوق گیاه کاکوتی دارای اثر ایمونومدولاتوری قابل توجهی می باشد (۱۴۶).

شیرازی و همکاران در سال ۲۰۰۹، مکانیسم مولکولی اثر محافظتی عصاره گیاه کاکوتی کوهی را در مقابل داروی دکستران سدیم سولفات در بیماری کولیت بررسی نمودند. IBD^۲ یک بیماری مزمن روده با علل ناشناخته چندگانه (ژنتیکی، ایمنی و محیطی) می باشد. عصاره گیاه مورد نظر با غلظت های ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ mg/kg به مدت ۷ روز به موشهایی که از دارو استفاده نموده بودند خورانده شد. میزان پراکسیداسیون لیپید، نیتریک اکسید و $\text{TNF-}\alpha$ در حضور داروی مورد استفاده افزایش ولی ظرفیت آنتی اکسیدانی، آنزیم های اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دسموتاز و پراکسیداز کاهش دادند. در این تحقیق مشاهده شد که این تغییرات در حضور عصاره گیاه مذکور بهبود یافته و به وضعیت

^۱ -reactive oxygen species

^۲ -Inflammatory Bowel Disease

نرمال برگشتند. پس می توان گفت که این گیاه دارای خاصیت محافظتی در کولیت موش می باشد (۱۴۷).

در مطالعه ای دیگر توسط غفاری و همکاران اثر محافظتی عصاره گیاه کاکوتی کوهی در مقابل اثرات اسید استیک در بیماری کولیت بررسی شد. عصاره گیاه فوق در غلظت های ۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ mg/kg به موشهایی که دوز سمی اسید استیک را به صورت داخل رکتومی دریافت نموده بودند، خوراند. در حضور اسید استیک میزان میلوپراکسیداز و پراکسیداسیون لیپید افزایش می یابد ولی بعد از استفاده عصاره مخصوصا در غلظت ۳۰۰ mg/kg میزان آنها کاهش قابل توجهی نشان داد. پس می توان نتیجه گرفت که گیاه کاکوتی می تواند اثرات سمی اسید استیک را روی مخاط روده، با مهار استرس های اکسیداتیو سلولی (cellular oxidative stress) کنترل نماید (۱۴۸).

اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*- Lavander)

این گیاه در خانواده *Lamiaceae (labiatae)* قرار داشته و به طور رایج اسطوخودوس یا *Garden lavender* نامیده می شود (۶۵). اسطوخودوس به صورت وحشی فقط در نواحی مدیترانه می روید ولی در مناطق گرم اروپا از جمله بریتانیا در مزارع کاشته می شود (۶۶). در ارتفاعات ۷۰۰-۱۴۰۰ متری نواحی جنوبی فرانسه و ایتالیا دیده شده و واریته فرانسوی آن از قدیمی ترین و با ارزشترین آنهاست (۶۸). این گیاه در منطقه وسیعی از نواحی شمالی ایران بین منجیل و پاچنار (راه قزوین به رشت) و رودبار در ارتفاعات ۳۰۰ متری دیده می شود (۹۹). اسطوخودوس بوته ای با ساقه ای پوشیده از برگهای باریک است که در انتهای ساقه ها، خوشه ای از گلهای آبی رنگ دیده می شود. میوه آن فندقه و تمام گیاه خوشبو و معطر است. قسمت های دارویی این گیاه، گلها و ساقه های خشک آن می باشد (۶۶).

ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی آن حاوی ژرانیول، بورنئول، تانن، لینالول، لینالیل استات، سینئول، کامفور، آلفا ترپینئول، سیس و ترانس بتا اوسیمن، تیمول، اتوژنول، ترپین ۴- ال، کومارین ها، فلاونوئیدها، فیتواسترول ها، کاپروئیک اسید و پرلیل الکل می باشد (۶۵).

این گیاه به عنوان گندزدا، کشنده باکتری، دافع کرم، ضد آسکاریس، حشره کش موثر بوده و در درمان زخمهای عفونی، سوختگیها، جرب، التیام نیش حشرات و مارها کاربرد داشته است (۶۸).

سال ۲۰۰۶ در مطالعه ای توسط Moon و همکاران، فعالیت آنتی پارازیتی اسطوخودوس در مقابل ژیاوردیا دئودنالیس، تریکوموناس واژینالیس و هگزامیتا (انگل ماهی) مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش غلظت های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد اسانس گیاه در آب مقطر استریل مورد استفاده قرار گرفت و مشخص شد که این گیاه با غلظت های ۰/۵ و ۱ درصد در مدت زمان ۲۰ دقیقه به میزان ۱۰۰٪ انگل های بالا را از بین می برد ولی اثرش در غلظت ۰/۱٪ روی انگل های مذکور بعد از ۸۵ دقیقه حادث شد. همچنین محققین اثر دو گونه گیاه اسطوخودوس از جمله گونه های *Lavandula angustifolia* و *Lavandula intermedia* را مورد مقایسه قرار دادند و مشاهده کردند که گونه *Lavandula angustifolia* در غلظت ۰/۱٪ و مدت زمان های ۶۰، ۷۰، ۷۵، ۸۰ و ۸۵ دقیقه اثر بیشتری نسبت به *Lavandula intermedia* روی ژیاوردیا دئودنالیس و هگزامیتا دارد (۱۰۰).

در ترکیه Sen و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر عصاره آبی ۱۰ نوع گیاه از جمله اسطوخودوس را روی چند گونه قارچ عامل فساد چوب بررسی نمودند. آنها قارچ ها را در پتری دیش کشت داده و دیسک های کاغذی آغشته به این گیاه در غلظت ۳/۵ml را در روی آن قرار دادند و پتری دیش ها را به مدت ۳ هفته در دمای 26 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۰٪ نگهداری کردند. نتایج به صورت عدم رشد میسلیم (++++)، ۲۵٪ رشد (+++)، ۵۰٪ رشد (++)، ۷۵٪ رشد (+) و ۱۰۰٪ رشد (-) در پتری دیش گزارش گردید. در این تحقیق مشاهده کردند که از بین عصاره گیاهان مورد آزمایش فقط دو گیاه از

جمله اسطوخودوس دارای خواص ضد قارچی بودند و این اثر از ۵۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود که حاکی از اثر مناسب این گیاه روی میکروارگانیسم ها از جمله قارچ ها می باشد (۸۹).

D'Auria و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر اسطوخودوس و ترکیبات لینالول و لینالیل استات را در مقابل ۵۰ گونه کاندیدا آلبیکنس (۲۸ گونه اوروفارنژیال و ۲۲ گونه واژینال) مورد بررسی قرار دادند. غلظت های مورد استفاده به میزان ۰/۰۰۷۸ تا ۴ درصد در نظر گرفته شد. آزمایش در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۴۸ ساعت انجام شد. در نهایت اثر کشندگی اسانس و مواد ذکر شده را ارزیابی نموده و نتیجه گرفتند که اسانس روغنی لاواندر در غلظت ۰/۱۲۵ تا ۲ درصد مانع رشد قارچ شده و اثر کشندگی این گیاه از غلظت ۰/۵ درصد شروع و تا غلظت ۴ درصد ادامه یافت بطوریکه در غلظت ۰/۵٪ در مدت زمان ۳۰ دقیقه به میزان ۹۸٪ قارچها را از بین برد و در غلظت ۲٪ در مدت زمان های ۵ و ۱۵ دقیقه به ترتیب به میزان ۹۹ و ۱۰۰ درصد باعث مرگ کاندیدا شد. در این مطالعه آنها مشاهده کردند که ترکیب لینالول در غلظت ۰/۵٪ در مدت ۳۰ دقیقه به میزان ۱۰۰ درصد باعث مرگ قارچ شد. آنالیز ترکیبات شیمیائی اسانس توسط کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی تعیین گردید و مشاهده شد که لینالول و لینالیل استات به نسبت های ۳۲/۷۵ و ۴۳/۱۳ درصد (تقریباً ۷۵٪) در گیاه اسطوخودوس وجود دارد. بر طبق این مطالعه لینالول دلیل اصلی قارچ کشی گیاه اسطوخودوس گزارش گردید (۱۰۱).

در سال ۲۰۱۰ Zuzarte و همکاران در پرتغال اثر ضد قارچی اسانس *Lavandula viridis* و ترکیبات شیمیایی لینالول، آلفا پینن، ۸-۱ سینئول و کامفور تهیه شده از شرکت های معتبر را مورد مقایسه قرار دادند. اسانس گیاه مذکور با غلظت های سریالی ۰/۰۸ تا ۲۰ $\mu\text{l/ml}$ تهیه شد و با قارچ های کاندیدا آلبیکنس، کریپتوکوکوس نئوفورمانس و آسپرژیلوس در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت و درماتوفیتها در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷ روز آنکوبه شد. بعد از

گذشت مدت زمان های مورد نظر، میزان MIC اسانس گیاه و مواد شیمیایی ذکر شده، مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ترکیبات اسانس نیز با روش کروماتوگرافی گازی تعیین گردید و ترکیبات اصلی آن ۸-۱ سینئول (حداکثر ۲/۴۲٪)، کامفور (۴/۱۳٪) آلفا پینن (۹٪)، لینالول (حداکثر ۷/۹٪) و سزکوئی ترین ها (حداکثر ۴/۸٪) گزارش شد. نتایج به دست آمده نشان داد که حداقل غلظت اسانس گیاه برای ممانعت از فیلامانتاسیون قارچها 0.08 تا 0.16 $\mu\text{g/ml}$ و برای ممانعت از رشد درماتوفیتها و کریپتوکوکوس نفوفورمانس بین 0.32 تا 0.64 $\mu\text{g/ml}$ و کاندیدا آلیکنس 0.64 تا 2.5 $\mu\text{g/ml}$ گزارش شد. این گیاه اثر کمی روی گونه آسپرژیلوس داشت. ترکیبات ۸-۱ سینئول، لینالول، کامفور و آلفا پینن نیز دارای فعالیت ضد قارچی بودند. ترکیب آلفا پینن با MIC به میزان 0.16 تا 1.25 برای کاندیدا و 0.08 تا 1.25 برای درماتوفیتها دارای اثر مناسبی بود. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق آنها دریافتند که آلفا پینن از ترکیبات مهم موثره در کشندگی قارچ ها در گیاه اسطوخودوس می باشد (۱۰۲).

Conti و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر حشره کشی اسانس روغنی چند گونه گیاهی از جمله اسطوخودوس را در مقابل لارو پشه آئدس آلبوپیکتوس بررسی نمودند، میزان ترکیبات اسانس با روش کروماتوگرافی گازی قبل از شروع آزمایش تعیین شد. از گیاه مذکور ترکیبات مهمی چون آلفا پینن 6.8% ، کامفور 13.8% ، کامفونن 13.7% ، لیمونن 4.4% ، لینالیل استات 3.2% و بورنیل استات 5.3% و بسیاری مواد دیگر آنالیز شد. اسانس با غلظت های 50 ، 100 ، 150 ، 200 ، 250 و 300 در آب معدنی و 0.1 درصد توئین ۸۰ تهیه شده و لاروها به مدت ۲۴ ساعت با آنها مورد مواجهه قرار گرفتند. اثر کشندگی گیاه اسطوخودوس در غلظت های 50 ، 100 ، 150 ، 200 ، 250 و 300 به ترتیب صفر، $3/3$ ، $6/7$ ، 20 ، $38/30$ و 55 درصد گزارش شد و در غلظت بین 250 تا 300 باعث از بین رفتن

۵۰٪ از لاروها گردید. در طی آزمایش مشاهده شد که شدت مرگ و میر لاروها کاملاً وابسته به غلظت اسانس بود (۹۱).

میرکاظمی و همکاران در سال ۱۳۸۸ سمیت تنفسی هفت غلظت مختلف (۱۸۵/۲، ۳۷۰/۴، ۵۵۵/۵، ۷۴۰/۷، ۹۲۵/۴، ۱۱۱۱/۱ و ۱۲۹۶/۳ میکرولیتر در لیتر آب) اسانسهای ۵ گونه گیاهی از جمله اسطوخودوس را روی دو گونه مهم آفت انباری سوسک چهارنقطه ای حبوبات و شیشه آرد^۱ مورد بررسی قرار دادند و متوجه شدند که سوسک چهارنقطه ای نسبت به شیشه آرد به اسانس حساستر بود، و در پائینترین غلظت اسانس (۱۸۵/۲ $\mu\text{l/l}$) میزان مرگ و میر سوسک بعد از گذشت ۱۸ ساعت به ۱۰۰٪ رسید در حالیکه در شیشه آرد در همان غلظت بعد از ۱۸ و ۲۴ ساعت مواجهه به ترتیب فقط ۵٪ و ۱۲٪ آنها از بین رفت و در بالاترین غلظت اسانس (۱۲۹۶/۳ $\mu\text{l/l}$) سوسک بعد از ۵ ساعت و شیشه آرد بعد از ۲۴ ساعت به میزان ۱۰۰٪ از بین رفتند (۱۰۳).

در سال ۱۳۹۰ اثر سمیت تنفسی اسانس گیاه اسطوخودوس بر روی سوسک چهارنقطه ای حبوبات، توسط گلستانی کلات و همکاران، مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش های زیست سنجی اسانس ها بر روی حشرات کامل ۱ تا ۲ روزه سوسک در دمای $19 \pm 29^\circ\text{C}$ و رطوبت نسبی $5 \pm 60\%$ ، در ظروف شیشه ای درپوش دار انجام شد. با تعیین شاخص LC_{50} سمیت تنفسی اسانس ارزیابی شد. این اثر در اسانس با غلظت و مدت زمان اسانس دهی همبستگی مثبت و معنی داری داشت. حشرات نر در مقایسه با ماده ها حساسیت بیشتری نسبت به اسانس ها داشتند. LC_{50} برای حشرات نر و ماده به ترتیب معادل $34 \mu\text{l/l}$ و ۵۴ محاسبه گردید و نتایج نشان داد که اسانس گیاه مذکور دارای اثرات حشره کشی قابل توجهی می باشد ولی نیاز به تحقیقات بیشتر می باشد (۹۷).

^۱ -Tribolium castaneum

سال ۲۰۱۲، Perez و همکاران در مکزیک طی یک مقاله مروری اثر چند گیاه از جمله دو گونه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* و *Lavandula intermedia*) را روی تک یاخته ها از جمله ژیا ردیا مطالعه کردند و مشاهده نمودند که اسانس دو گیاه مذکور دارای اثر کاهشی معنی داری در ویابیلیتی این انگل ها بودند (۱۰۴).

در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۰ توسط خیر آبادی و همکاران اثر اسانس گیاه اسطوخودوس روی کنه ریپی سفالوس بررسی شد. در این تحقیق غلظت های سریالی ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد وزنی حجمی (w/v) از گیاه مذکور تهیه و کنه ها به مدت ۲۴ ساعت با آنها آنکوبه شدند. نتایج نشان داد که این گیاه در غلظت های بیشتر از ۴٪ اثر حشره کشی قابل توجهی داشت و با غلظتهای ۴ تا ۸ درصد به ترتیب ۷۳/۲۶ و ۱۰۰ درصد از حشره ها را از بین بردند. همچنین گزارش نمودند که اسانس گیاه مذکور در غلظت زیاد اثر بیشتری روی تخم کنه ها دارد به اینصورت که در غلظت ۰/۵٪ وزن تخم ها حدود ۰/۱۲ gr بوده و در غلظت ۸٪ این وزن به صفر رسید (۱۰۵).

نائینی و همکاران طی یک مطالعه، اثرات ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله اسطوخودوس را روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش دیسک گذاری و انتشار در آگار، مورد بررسی قرار دادند. آنها از داروهای آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین به عنوان کنترل مثبت استفاده کردند و تشکیل منطقه عدم رشد قارچ در پیرامون دیسک ها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۱۶ گیاه از ۵۰ گیاه مورد مطالعه دارای فعالیت ضد کاندیدایی بود. قطر هاله عدم رشد داروهای ضد قارچ مورد استفاده از جمله آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین به ترتیب ۱۶، ۲۳ و ۲۵ به دست آمد در صورتی که این اثر در مورد اسانس گیاه اسطوخودوس بسیار قوی تر و قطر هاله عدم رشد آن ۴۵mm گزارش شد (۶۹).

در سال ۱۹۹۹، Hammer و همکاران در استرالیا، فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره ۵۲ گیاه از جمله اسطوخودوس را مورد بررسی قرار دادند. آنها از روش انتشار روی آگار استفاده نموده و غلظت های ۰/۰۳ تا ۲ درصد اسانس را روی میکروب ها و قارچ های کشت داده شده آزمایش کردند و آنها را در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت آنکوبه نمودند. حداقل غلظت کشندگی برای باکتری در مدت ۲۴ ساعت و برای کاندیدا آلبیکانس ۴۸ ساعت اتفاق افتاد. MIC این گیاه در مقابل کاندیدا آلبیکانس و استافیلوکوک اورئوس ۰/۵ درصد و MCC^۱ آن ۱ درصد بود و MIC و MCC آنها در مقابل اشرشیا کلی ۰/۲۵ درصد گزارش گردید (۷۰).

Jaenson و همکاران در سال ۲۰۰۶ از گیاهانی از جمله اسطوخودوس به عنوان دورکننده بندپایان خونخوار استفاده نمودند و به نتایج قابل توجهی دست یافتند. در این تحقیق مشاهده شد که روغن لاوندر هنگامی که با ۱ و ۲ پروپانیدیول به صورت ۱٪ رقیق می شد دارای فعالیت دورکنندگی ضعیف ولی در رقت ۳۰٪ این اثر به ۱۰۰٪ رسید (۱۰۶).

در سال ۲۰۱۱ Sienkiewicz و همکاران اثر اسانس اسطوخودوس را روی ۳۰ گونه کلینیکی اشرشیا کلی بکار بردند و مشاهده نمودند که اسطوخودوس روی باکتری های کلینیکی مذکور اثر کشندگی دارد (۱۰۷).

Soković و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر ضد باکتریایی چند گیاه دارویی از جمله اسطوخودوس در محیط آزمایشگاه را مورد بررسی قرار دادند و نتایج خوبی به دست آوردند. ترکیب اصلی اسانس حاوی موادی چون سینئول، کارواکرول، کامفور، تیمول، لینالول، لینالیل استات، لیمونن، آلفا و بتا پینن می باشد که اثر ضد باکتریایی گیاه مذکور را به وجود این ترکیبات مخصوصا کارواکرول نسبت دادند (۱۰۸).

^۱ -Minimum cidal concentration

Zuzarte و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر ضد التهابی اسانس دو گیاه *Lavandula stoechas* و *Thymus herba-barona* را مطالعه نمودند. در این تحقیق از گیاه اسطوخودوس، غلظت های $0.08 \mu\text{l/ml}$ ، $0.16 \mu\text{l/ml}$ ، $0.32 \mu\text{l/ml}$ و $0.64 \mu\text{l/ml}$ و از گیاه آویشن غلظت های $0.02 \mu\text{l/ml}$ ، $0.04 \mu\text{l/ml}$ ، $0.08 \mu\text{l/ml}$ و $0.16 \mu\text{l/ml}$ تهیه شد. ماکروفاژهای تحریک شده با لیپو پلی ساکارید در حضور عصاره های ذکر شده قرار گرفتند. در بررسی ویبیلیتی ماکروفاژ مشاهده شد که گیاه اسطوخودوس در غلظت های $0.08 \mu\text{l/ml}$ ، $0.16 \mu\text{l/ml}$ ، $0.32 \mu\text{l/ml}$ اثر سیتوتوکسیکی نداشت ولی در غلظت های بالاتر باعث کاهش ویبیلیتی ماکروفاژ شد. گیاه آویشن در غلظت های بالا باعث کاهش ویبیلیتی ماکروفاژ شد. از طرفی ماکروفاژ در حضور لیپو پلی ساکارید، میزان زیادی NO (مارکر التهابی) تولید می کند و وقتی این سلول در مجاور اسانس گیاه اسطوخودوس قرار می گیرد، تولید NO در غلظت های $0.16 \mu\text{l/ml}$ تا $0.64 \mu\text{l/ml}$ مهار می شود که البته غلظت های $0.16 \mu\text{l/ml}$ تا $0.32 \mu\text{l/ml}$ همانطور که ذکر شد برای سلول توکسیک نمی باشند. در این تحقیق برای گیاه آویشن اثر ضد التهابی چندانی گزارش نشد (۱۵۰).

در مطالعه ای دیگر، Dalilan و همکاران، سال ۲۰۱۳ اثر ضد سرطانی عصاره آبی گیاه اسطوخودوس را روی سلول های لنفوسیت مشتق شده از بیماران لنفوم هوچکین مطالعه نمودند. در این تحقیق مشاهده شد که گیاه مذکور با LC50 به میزان $100 \mu\text{g/ml}$ باعث کاهش ویبیلیتی لنفوسیت ها شده و همچنین تکثیر این سلول ها را مهار کرد. آپوپتوز یک مکانیسم مهم در سلول های هوچکین مواجه شده با اسانس گیاه فوق بود (۱۵۱).

امیری و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک اسانس و چند عصاره گیاه اسطوخودوس را روی سلول های سرطان دهانه رحم (سرویگس) بررسی نمودند. سلول های مورد نظر در محیط RPMI کشت داده شد و با غلظت های مختلف از اسانس و عصاره های اتانولی و اتر دی پترولی به مدت ۴۸ ساعت آنکوبه گردیدند. در این تحقیق مشاهده شد که رشد سلول های

سرطانی توسط گیاه مذکور مهار شد و همچنین تجمع DNA در فاز G1 چرخه سلولی از شواهد آپوپتوز سلول های سرطانی می باشد (۱۵۲).

Ueno-Iio و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر استنشاق اسانس گیاه اسطوخودوس را در سرکوب التهاب آلرژیک راه های هوایی و هیپر پلازی سلولی موکوس در مدل موشی آسم بررسی نمودند. در این تحقیق دیده شد که در گروه های مواجه شده با اسانس، تعداد سلول ها و ائوزینوفیل در مایع BAL^۱ و نیز هیپرپلازی موکوسی کمتری وجود داشت، همچنین در این گروه میزان IL-5 و IL-13 در مایع BAL و بیان mRNA سایتوکاین های IL-4 و IL-5 در بافت ریه کاهش داشت. محققین دریافتند که اسانس لاواندر، التهاب آلرژیک و هیپرپلازی موکوسی را بوسیله سرکوب سایتوکاین های Th₂ مهار می کند، پس این گیاه ممکن است برای درمان آسم برونشیا ل جایگزین مناسبی باشد (۱۵۳).

دارچین (*Cinnamomum aromaticum*)

پرک هندی و یا چینی از نام های رایج این گیاه است. درختی همیشه سبز به ارتفاع ۵-۷ متر با برگهای متقابل، بیضی، دراز، نوک تیز و کاملاً بی کرک است. بخشهای مورد استفاده این گیاه، پوست و برگ آن است که اسانس آن در اثر تقطیر پوست و برگ آنها توسط بخار آب حاصل می شود (۶۸). دارچین، گیاه بومی هندوستان و سریلانکا بوده و در مناطقی از آفریقا، جنوب شرقی هند، اندونزی، آمریکای جنوبی و غرب هندوستان کاشته می شود. گیاه دارچین به طور عمده از سریلانکا و به میزان کمتری از مالزی و ماداگاسکار صادر می گردد (۸۱). از مهمترین ترکیبات موجود در این گیاه ائوزنول، هیدروکربن ها، الکل های تربنی، پینن، سینئول، فلاندرین، فورفورول، سیمونولینال، قند، تانن، نشاسته و مالیت می باشد. این گیاه به عنوان گندزدا، ضد عفونت، متوقف کننده رشد باکتری، ضد قارچ، ضد نفخ

¹ -Broncho Alveolar Lavage

و دافع کرم کاربرد داشته و همچنین در مصارف خارجی به عنوان انگل کش و قارچ کش مورد استفاده قرار می گیرد. گیاه مذکور به دلیل داشتن اتوژنول بعنوان آنتی سپتیک و آنتی پارازیت بکار می رود. طبق بعضی تحقیقات این گیاه به عنوان محرک سیستم ایمنی نیز معرفی شده است (۶۸).

در سریلانکا توسط Amarasinghe و همکاران در سال ۲۰۱۱، اثر اسانس برگ و پوست گیاه دارچین بر روی نماتود مولد گره ریشه برنج^۱ مورد مطالعه قرار گرفت. با انجام کروماتوگرافی گازی مشاهده شد که اسانس پوست و برگ گیاه مذکور به ترتیب دارای حدود ۷۲٪ سینام آلدئید و ۸۶٪ اتوژنول بود. در این تحقیق غلظت های مورد استفاده برای برگ گیاه، ۰/۱، ۰/۰۳، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۹ و برای پوست آن، ۰/۱ ppm، ۰/۳ و ۰/۹ بود. اسانس برگ در غلظت ۰/۱ ppm حدود ۲۵٪ و اسانس پوست آن، در غلظت ۰/۱ ppm تقریباً به میزان ۳۵٪ از انگل را از بین برد. بالاترین درصد مرگ نماتود در غلظت ۰/۹ ppm برای هر دو اسانس، حدوداً به میزان ۶۰٪ گزارش شد. میزان LC50 در اسانس برگ کمتر از اسانس پوست بود ولی این اختلاف معنی دار نبود. تعداد گره های ریشه که شاخص آلودگی بودند به طور قابل توجهی در گیاهان درمان شده با اسانس دارچین کمتر شده بود. طبق این تحقیق احتمال داده می شود که اثر کشندگی اسانس این گیاه به دلیل ترکیبات سینام آلدئید و اتوژنول باشد (۱۰۹).

در سال ۲۰۱۱، Nadia و همکاران اثر اسانس گیاه دارچین را روی بیماری کریپتوسپوریடியازیس در موش بررسی نمودند. آنها موش ها را به چند گروه تقسیم کردند. یک گروه از موش ها را به طور تجربی با ۱۰^۶ اوسیست تک یاخته آلوده نمودند و سپس روزانه با دوز ۱۰۰g/۱ml وزن بدن و به مدت ۱۷ روز، به طور خوراکی به موشهای آلوده، اسانس دارچین خورانده شد. نمونه مدفوع موش ها هر روز بعد از شروع درمان مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس دارچین بر روی

^۱ -Meloidogyne graminicola

کریپتوسپوریدیوم پارووم موشها موثر بود بطوریکه تعداد اوسیست ها در روز اول ۶۰ عدد گزارش شد ولی با گذشت زمان، مخصوصا از روز سوم به بعد این تعداد کمتر و بعد از ۱۷ روز به صفر رسید (۱۱۰).

در مطالعه ای توسط Fichia و در سال ۲۰۰۷، اثر ضد انگلی اسانس گیاه دارچین بر روی *Psoroptes cuniculi* (مولد گال) بررسی شد. آنها غلظت های ۰/۰۳ تا ۱۰ درصد اسانس ها را تهیه و به پتری دیش های حامل مرحله متحرک انگل اضافه نمودند. نمونه ها در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد آنکوبه و بعد از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اسانس این گیاه در غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱ و ۰/۱۶ درصد به ترتیب به میزان ۵/۸۸، ۱۶/۶۷، ۶۹/۶۶ و ۹۶/۷۷ درصد و در غلظت های ۰/۳۱، ۰/۶۲، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۱۰ درصد به میزان ۱۰۰٪ باعث از بین رفتن انگل ها می شود. در این مطالعه طبق آنالیز اسانس گیاه مذکور به روش کروماتوگرافی گازی مشخص شد که ترکیباتی از جمله اتوژنول (۷۶/۱٪)، لینالول (۳/۷٪)، بتا کاریوفیلین (۶/۷٪)، اتوژنیل استات (۲/۸٪)، سافرول (۲٪)، بنزیل بنزوات (۱/۹٪) و آلفا کوپین (۱/۲٪) در آن وجود داشته و احتمال داده می شود که این ترکیبات یکی از دلایل اثر کشندگی اسانس گیاه دارچین روی انگل ها باشد (۱۱۱).

اثر عصاره ۶ گونه گیاهی از جمله دارچین بر روی لارو کنه های *Leptotrombidium deliense* در سال ۲۰۱۱، توسط Azima و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از غلظت های ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد عصاره گیاهان مورد نظر استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره گیاهان مورد استفاده، اثر دورکنندگی آنها بیشتر می شود. اثر عصاره دارچین در غلظت های فوق به ترتیب به میزان ۲۳، ۵۶، ۶۰، ۷۶، ۹۰ و ۹۳ درصد بود. محققین در این مطالعه دریافتند که

گیاهان مختلف با غلظت های متفاوت، اثرات متغیری روی حشرات داشته و گیاهی چون دارچین می تواند دارای اثر دور کنندگی مناسبی باشد (۱۱۲).

در سال ۱۳۸۶ عطائی و همکاران اثر ضد قارچی عصاره چند گیاه از جمله دارچین را روی سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانسی در مقایسه با دهان شویه نیستاتین بررسی نمودند. آنها رقت های $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{5}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{3}$ و $\frac{1}{2}$ عصاره ها را در لوله های آزمایش با قارچ مورد نظر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۳ هفته آنکوبه کردند. در این بررسی مشخص شد که عصاره گیاه دارچین در مقایسه با نیستاتین خالص دارای خاصیت ضد قارچی مناسبی بوده و قارچ مورد نظر در حضور عصاره این گیاه در رقت های $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{5}$ به طور کامل از بین رفت (۱۱۳).

رنجبریان و همکاران، اثر ضد باکتریایی ۴ عصاره گیاهی از جمله دارچین را بر روی ۱۴ سویه هلیکوباکتر پیلوری به روش دیسک دیفیوژن بررسی نمودند. عصاره ها با غلظت های ۰/۰۱ g/ml، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵۰ تهیه و به دیسک ها تلقیح گردید. عصاره های مورد نظر با سوسپانسیون باکتری ها در محیط کشت مولر هیتون آگار خون دار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳-۴ روز آنکوبه شدند. از ۱۴ سویه هلیکوباکتر پیلوری، ۶ مورد به عصاره دارچین حساسیت نشان دادند. قطر هاله مهار رشد گیاهان بین ۸-۱۲ میلی متر گزارش گردید (۱۱۴).

Unlu و همکاران در ترکیه در سال ۲۰۱۰، اثر اسانس پوست گیاه دارچین را روی ۲۱ گونه باکتری و ۴ گونه کاندیدا به روش دیسک گذاری و انتشار در آگار مورد مطالعه قرار دادند. غلظت های ۰/۰۳۵ mg/ml تا ۷۲ از اسانس تهیه و با باکتری ها و مخمرها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد آنکوبه شدند. حداقل غلظت ممانعت از رشد آنها بین ۰/۰۴ تا ۱/۱۲ گزارش شد. با استفاده از روش

کروماتوگرافی گازی مشاهده کردند که سینام آلدئید (۶۸/۹۵٪)، بنزالدئید (۹/۹۴٪)، سینامیل استات (۷/۴۴٪)، لیمونن (۴/۴۲٪) و اتوژنول (۲/۷۷٪) از ترکیبات مهم این گیاه بودند و احتمال دادند که اثر ضد باکتری و ضد قارچی قوی گیاه به دلیل وجود درصد بالای ترکیب سینام آلدئید باشد (۱۱۵).

نوری و همکاران در سال ۱۳۸۷ اثر اسانس گیاه دارچین را روی میزان رشد باکتری اشرشیا کلی در همبرگر بررسی نمودند. در این آزمایش غلظت های مختلف اسانس (۰/۰۰۵، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد) به همراه ۱۰۰ گرم همبرگر استریل و مقدار مشخص از باکتری مورد نظر در داخل کیسه های استریل قرار داده شد. این کیسه ها به مدت ۲۱ روز در دمای ۸ درجه سانتیگراد آنکوبه شدند. نتایج نشان داد که غلظت های ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد دارای اثر ضد باکتریایی قوی بودند. آنها مشاهده کردند که با افزایش غلظت اسانس، میزان رشد باکتری کاهش یافت. در آنالیز اسانس توسط کروماتوگرافی گازی، ترکیب سینامیک آلدئید (۵۱/۶۹٪) به عنوان اصلی ترین ماده موثره ضد باکتری گیاه معرفی گردید (۱۱۶).

در تحقیقی Joshi و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر عصاره اتانولی گیاه دارچین در مهار سیتوکاین پیش التهابی $TNF-\alpha$ را مطالعه نمودند. سلول های ماکروفاژ خون محیطی انسان با لیپوپلی ساکارید تحریک شده و سپس با غلظت های $1, 2/5, 5, 10, 20, 25$ و 100 $\mu g/ml$ از عصاره مذکور آنکوبه شدند. نتایج نشان داد که اسانس دارچین در غلظت $20 \mu g/ml$ باعث مهار تولید سایتوکاین فوق شد. این گیاه در غلظت های 1 تا $20 \mu g/ml$ تاثیری در ویابیلیتی ماکروفاژ ها نداشت ولی در غلظت های $25 \mu g/ml$ و 100 ، بیش از 80 درصد سلولها ویابیلیتی خود را از دست دادند. بنابراین در بررسی In vivo، از غلظت های غیر توکسیک در موش استفاده شد و مشاهده گردید که اسانس مذکور در غلظت $20 \mu g/ml$ به طور قابل توجهی باعث مهار تولید داخل سلولی $TNF-\alpha$ در لکوسیت ها و نوتروفیل های مایع پلور موش شد (۱۵۵).

در سال ۲۰۰۸ توسط Chao و همکاران، اثر مهارى ماده سينام آلدئيد بر ترشح سايتوکاين هاى پيش التهابى بررسى شد. تركيب فوق از برگ هاى گياه *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh تهیه گردید. آنها ماکروفاژهاى تحريك شده با ليوپولى ساکاريد را با غلظت هاى مختلف از اين ماده آنکوبه کردند. تركيب مذکور ميزان توليد IL-6، IL-1 و TNF- α و همچنين ميزان ROS در سلول هاى ماکروفاژ را کاهش داد. با توجه با اين تحقيق وجود ويژگى ضد التهابى و آنتى اکسيدانى گياه مذکور خواص ايمونومدولاتورى آن را تائيد مى کند (۱۵۶).

Sung و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر عصاره گياه *Cinnamomum cassia* را روى زخم هاى شبه درماتيدى پوست در موش مطالعه نمودند. زخم هاى روى سرموش به مدت ۳۴ روز با اين عصاره درمان شدند. بعد از گذشت اين مدت مشاهده شد که تعداد زخم ها کاهش يافته و همچنين سطح سرمى آنتى بادى IgE و نيز ميزان هيستامين و TNF- α کاهش داشتند. در بررسى هيستولوژيک، کاهش اينفيلتراسيون سلولى و التهاب مشاهده شد. در زخم هاى پوستى نيز بيان mRNA سايتوکاين هاى IL-4 و TNF- α در حضور عصاره مهار شد. با توجه به اين تحقيق گياه مورد آزمایش، توسعه زخم هاى آتوپيک شبه درماتيدى در پوست را توسط سرکوب پاسخ ايمنى Th₂، مهار کرده و مانع اينفيلتراسيون سلولى به اين ناحيه شده بود (۱۵۷).

Lee Bj و همکاران اثر ايمونومدولاتورى عصاره آبى پوست گياه *Cinnamon* را مطالعه نمودند. آنها به موشهاى مورد آزمایش به مدت ۷ روز از عصاره گياه فوق به صورت خوراکی دادند و سپس ۹۰ دقيقه بعد از تزريق آنتى بادى Anti-CD3، سرم خون آنها را با روش اليزا بررسى کردند. مشاهده شد که ميزان سيستمىک IFN- γ کاهش داشته ولى ميزان IL-2 و IL-4 تغييرى نداشت. سلول هاى طحال موش را با آنتى بادى Anti-CD3 تحريك کرده و در حضور عصاره مورد نظر آنکوبه نمودند. ميزان بيان سايتوکاين هاى IFN- γ و IL-4 در سطح mRNA مهار شد. همچنين

میزان سلول های آپوپتوز و نکروز شده در حضور عصاره مذکور افزایش یافت. این تحقیق اثر ایمنومودولاتوری گیاه فوق را تقویت می کند (۱۵۸).

کافور (*Cinnamomum camphora*)

کافور از خانواده *Lauraceae* بوده و با نامهای رایج *Camphor tree* , *Camphor wood* *camphor laurel* شناخته می شود. گیاهی همیشه سبز دارای گلهای سفید رنگ، میوه های سیاه شبیه تمشک سیاه، پوست رنگ پریده، شیاردار و خشن است. ترکیبات شیمیایی متنوعی از جمله سینام آلدئید، مانیتول، کومارین ها، و پینن، ائوژنول و آلدئید در این گیاه وجود دارد. از این گیاه به عنوان دور کننده حشرات، ضد کرم و درمان عفونت ها استفاده می شود (۱۱۷، ۱۱۸).

در مطالعه ای توسط Haque و همکاران در هند در سال ۲۰۱۰ اثر ضد کرمی عصاره آبی گیاه کافور روی کرمهای خاکی (*Pheretima posthuma*)، کرمهای نواری (*Raillietina spiralis*) و کرمهای گرد (*Ascaridia galli*) بررسی شد. غلظت های متفاوت (۱۰mg/ml تا ۷۰) از عصاره این گیاه مورد استفاده قرار گرفت. این مطالعه نشان داد که میزان مرگ کرم ها ارتباط مستقیم با غلظت اسانس داشت. گیاه مذکور با غلظت ۱۰mg/ml اثر قابل توجهی روی کرم های گرد داشت و با غلظت ۵۰mg/ml باعث مرگ همه کرم های مورد آزمایش شد (۱۱۸).

در سال ۲۰۰۴، توسط Rajeshwari و همکاران، اثر پماد Scavon vet Cream حاوی اسانس چند گیاه دارویی از جمله کافور، روی بیماری پوستی گال در خوکها مورد بررسی قرار گرفت. عامل این بیماری نوعی مایت به نام *Sarcoptes scabiei* می باشد. دارو بر روی زخم های پوستی به مدت ۷ روز مالیده شد. تراشه های پوستی از نظر وجود مایت در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ بررسی گردید. آنها مشاهده کردند که ۱۵ روز بعد از شروع درمان با پماد ذکر شده، در پوسته های مورد آزمایش هیچ

مایتی وجود نداشت و بعد از ۲۰ روز، پوست حالت نرمال پیدا کرد. این تحقیق نشان داد که گیاهان مذکور می توانند روی مرگ حشرات دارای اثر با ارزش و قابل توجهی باشند (۱۱۹).

سال ۲۰۰۵، در مطالعه ای توسط Lee و همکاران اثر آنتی اکسیدانی و ضد التهابی عصاره گیاه کافور بررسی شد. آنها از عصاره و فراکشن های هگزانی، n- بوتانولی و اتیل استاتی با غلظت غیر توکسیک ($100 \mu\text{g/ml}$) استفاده نمودند. در این مطالعه مشاهده شد که در سلول های تحریک شده با لیپوبلی ساکارید میزان تولید $\text{IL-1}\beta$ ، IL-6 و $\text{TNF-}\alpha$ در حضور عصاره های متانولی، هگزانی و اتیل استاتی به طور قابل توجهی (۲۰ تا ۷۰ درصد) متوقف شد. همچنین فراکشن های هگزانی و اتیل استاتی تولید NO را در ماکروفاژهای تحریک شده با لیپو پلی ساکارید و اینترفرون گاما به میزان ۶۵٪ مهار کردند. عصاره متانولی و فراکشن های بوتانولی و اتیل استاتی به میزان بالایی (۷۰٪) تولید پروستاگلندین E2 را مهار کردند، همچنین آنها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بودند. اطلاعات به دست آمده از تحقیق فوق نشان می دهند که فعالیت ضد التهابی گیاه کافور ممکن است به دلیل تنظیم تولید NO، سایتوکاین های پیش التهابی و پروستاگلندین E2 باشد که در مورد فراکشن اتیل استاتی نیاز به مطالعه بیشتری می باشد (۱۶۰).



Cucurbita pepo



Myrtus communis



Ziziphora tenuior



Hypericum perfratum



Cinnamomum aromaticum



Cinnamomum camphora



Lavandula angustifolia



Nicotina tabacum

تصویر (۴) : گیاهان داروئی مورد آزمایش

فصل سوم

اهداف و فرضیات:

هدف اصلی

ارزیابی اثر پروتواسکولیسیدال چند گیاه دارویی بر پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک و تعیین خواص ایمنومدولاتوری گیاهان موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی سلولهای دندریتیک

اهداف فرعی

- ۱- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره تخم کدو روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در مدت زمان های مواجهه متفاوت
- ۲- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره تنباکو روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۳- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره چای کوهی روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۴- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره مورد روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۵- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره کاکوتی روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۶- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف اسانس اسطوخودوس روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۷- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف اسانس دارچین روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۸- تعیین اثر پروتواسکولیسیدال رقتهای مختلف عصاره کافور روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای مواجهه متفاوت
- ۹- تعیین اثر اسانس یا عصاره گیاهان دارویی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ CD80 سلول های دندریتیک

۱۰- تعیین اثر اسانس یا عصاره گیاهان داروئی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ MHCII سلول های دندریتیک

۱۱- تعیین اثر اسانس یا عصاره گیاهان داروئی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ CD40 سلول های دندریتیک

اهداف کاربردی

شناسایی داروهای گیاهی پروتواسکولیسیدال با غلظت های مشخص و با مدت زمان های مواجهه معین جهت استفاده در اعمال جراحی کیست هیداتیک همچنین شناسایی داروهای گیاهی پروتواسکولیسیدال با اثرات ایمونومدولاتوری بر سیستم ایمنی بدن.

فرضیه ها (Hypothesis) یا سؤال های پژوهش

- ۱- اسانس یا عصاره اسطوخودوس بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۲- اسانس یا عصاره کافور بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۳- اسانس یا عصاره تنباکو بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۴- اسانس یا عصاره کدو تنبل (مغز دانه) بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۵- اسانس یا عصاره مورد بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۶- اسانس یا عصاره کاکوتی بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۷- اسانس یا عصاره چای کوهی بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۸- اسانس یا عصاره دارچین بر ویابیلیتی پروتواسکولکس ها موثر می باشد
- ۹- اسانس یا عصاره گیاهان داروئی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ CD80 سلولهای دندریتیک موثر می باشد

۱۰- اسانس یا عصاره گیاهان دارویی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ MHCII

سلولهای دندریتیک موثر می باشد

۱۱- اسانس یا عصاره گیاهان دارویی موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی مارکر بلوغ CD11c

سلولهای دندریتیک موثر می باشد

جدول متغیرها (۱)

عنوان متغیر	مستقل	وابسته	کمی		کیفی		تعریف علمی	مقیاس
			پیوسته	گسسته	اسمی	رتبه ای		
ویابیلیتی کیست های هیداتیک		✓	✓				درصد زنده ماندن پروتواسکولکس ها در لوله های حاوی نمونه های مورد آزمایش	رنگ پذیری یا عدم رنگ پذیری با ائوزین ۱/۰٪
اثر اسانس یا عصاره گیاهان دارویی	✓				✓		اثرگذاری اسانس یا عصاره گیاهان روی پروتواسکولکس ها	دارد/ ندارد
مارکرهای بلوغ سلولی		✓	✓				مقدار بیان پروتئین های بلوغ در سطح سلول باروش فلوسیتومتری	درصد

نوع مطالعه:

controld traial (پایه - تجربی)

بررسی های آماری:

با استفاده از نرم افزار آماری SPSS داده ها وارد کامپیوتر شد و نتایج با استفاده از آزمونهای آماری

آنالیز واریانس یک طرفه و ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

فصل چهارم

مواد و روشها

وسایل مورد نیاز:

- ۱ - سمپلر متغیر بین $10 - 1000 \lambda$
- ۲ - پلیت (پتری دیش) استریل 60 mm (Nunc, Denmark)
- ۳ - سرنگ انسولین 1 cc
- ۴ - سرنگ 2 cc
- ۵ - لام نئوبار
- ۶ - قیچی و پنس نوک تیز
- ۷ - لوله فالکن 15 cc و 50 (Nunc, Denmark)
- ۸ - پیپت پاستور
- ۹ - سانتیفریوژ یخچال دار
- ۱۰ - PH- متر
- ۱۱ - ترازوی دیجیتال
- ۱۲ - انکوباتور 37°C درجه سانتی گراد حاوی $5\% \text{ CO}_2$
- ۱۳ - mesh (توری سیمی) $150 \mu\text{m}$
- ۱۴ - فویل
- ۱۵ - میکروپلیت استریل جهت کشت سلولی (دارای ۹۶ چاهک)
- ۱۶ - لوله کوچک آزمایشگاهی (مخصوص فلوسایتومتری) (BD)
- ۱۷ - سرسمپلر آبی و زرد استریل

- ۱۸ - لام شیشه ای
- ۱۹ - لامل
- ۲۰ - میکروسکوپ نوری (Zeiss.Germany)
- ۲۱ - انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد
- ۲۲ - ظروف شیشه ای دریچ دار
- ۲۳ - میکروتیوپ (اپندورف) در سایزهای مختلف
- ۲۴ - پنس و قیچی نوک تیز (ست جراحی استریل)
- ۲۵ - صفحه جراحی
- ۲۶ - سرنگ ۲ml (سوپا ایران)
- ۲۷ - هود لامینار (Holten Thromo, USA)
- ۲۸ - دستگاه مخصوص فلوسایتومتری (BD)
- ۲۹ - بافر فلوسایتومتری
- ۳۰ - جالوله ای پلاستیکی برای تیوپهای اپندورف
- ۳۱ - جالوله ای فلزی برای لوله آزمایش شیشه ای و لوله های فالکن
- ۳۲ - ماژیک مقاوم به آب
- ۳۳ - تایمر زنگ دار
- ۳۴ - برچسب کاغذی
- ۳۵ - دستکش لاتکس

مواد مورد نیاز

۱- موش های BALB/c (۶-۸ هفته ای باوزن ۲۵-۲۰gr): از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تهیه و با رعایت شرایط استاندارد به بخش انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین منتقل شد.

۲- بافر PBS:



این مواد را با هم و در ۴۵۰cc آب دیونیزه حل کرده و حجم آن را به ۵۰۰cc می رسانیم و با PH متر آن را بین ۷/۲-۷/۴ تنظیم نموده و سپس فیلتر یا اتوکلاو می کنیم.

۳- الکل ۷۰درجه: (۷۳CC الکل ۹۶ درجه + ۲۷CC آب مقطر) به اندازه حجم مورد نیاز تهیه نموده و داخل ظروف مخصوص می ریزیم (جهت ضد عفونی کردن سطوح و وسایل مورد استفاده).

۴- استوک بافر هضم کننده: ۵۰mg پودر کلاژناز D را در ۵cc محلول هنکس Hanks حل نموده و سپس فیلتر می کنیم و در ویال های ۵۰۰ μ l الیکوت کرده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری می کنیم و هنگام نیاز هر ویال را در ۴/۵cc محیط RPMI حل می کنیم.

۵- محیط RPMI-1640 حاوی ۲ درصد FCS (Fetal Calf Serum): با پروتئینهای گوساله غنی شده و حاوی اسیدآمینه L- گلوتامین است (Gibco,UK).

۶- L- گلوتامین: ۰/۶ gr پودر L- گلوتامین + ۲۰cc محلول PBS یا RPMI، این محلول را فیلتر کرده و در لوله های اپندورف به اندازه ۱cc تقسیم کرده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری می کنیم و در زمان مورد نیاز ۱cc از آن را به ۱۰۰۰cc محیط RPMI اضافه می کنیم.

۷- EDTA : ۵ میلی مولار و ۲ میلی مولار (Merk, Germany)

۸- محلول نایکودنز (۱۲/۸٪) (Axis- shield, NORWAY)

۹- رنگ تریپان بلو برای تعیین ویابیلیتی سلول های دندریتیک: (0.4 gr / 0.5 ml) پودر تریپان بلو + 10 CC بافر PBS) این رنگ را فیلتر کرده و درون لوله فالکن استریل می ریزیم.

۱۰- بافر مخصوص MACS برای جداسازی سلول های دندریتیک: 100 cc BSA ($0.5 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$) + 100 CC بافر PBS و 100 cc بافر EDTA 2 mM میلی مولار

۱۱- BSA (Bovine Serum Albumin) : 0.5 gr / 5 ml پودر BSA + 100 cc بافر PBS ، این محلول را فیلتر می کنیم.

۱۲- LPS (Lipo polysacrid) : کنترل مثبت

۱۳- اسانس و عصاره های گیاهان مورد آزمایش

۱۴- پارافرمالدئید (4 mg/ml) با مگنت در حرارت 37°C درجه سانتی گراد حل می شود. برای ریختن روی سلول ها و محافظت از آنها

۱۵- رنگ اتوژین $0.1 \text{ mg} / 1 \text{ ml}$ درصد

۱۶- سرم فیزیولوژی

۱۷- بافر DMSO

۱۸- آنتی بادی ایزوتایپ کنترل های مربوطه

۱۹- محلول هنکس (Hanks)

۲۰- بافر هضم کننده (استوک آنزیم کلاژناز D): 50 mg میلی گرم پودر کلاژناز را با 5 cc محلول هنکس حل کرده و سپس فیلتر می نمائیم. این بافر آماده را به ویال های 500 ml لاندات تقسیم و در فریزر -20°C درجه سانتی گراد نگه داری نموده و موقع تزریق هر ویال را در $4/5 \text{ cc}$ محیط RPMI حل می کنیم (تمام این مراحل روی یخ انجام می گیرد).

۲۱- آنتی بادی اختصاصی (منوکلونال کونژوگه علیه شاخص های سطحی سلول های دندریتیک)

No	Antibody(AB)	Conjugate	Company	Country	Clone	Isotype
1	Rat Anti Mouse CD40	FITC	BD	USA	3/23	Rat IgG2 α
2	HamsterAntiMouse CD11c	PE	BD	USA	HL3	Hamster IgG1
3	Anti Mouse CD86	FITC	BD	USA	GL1	IgG2 α
4	Isotype Control Hamster IgG1	PE	BD	USA	R35-95	Hamster IgG1
5	Isotype Control Rat IgG2 α	FITC	BD	USA	G235- 2356	Rat IgG2 α

توجه : تمام مراحل آزمایش در شرایط استریل انجام شد و قبل از شروع آزمایش تمام وسایل اعم از لوله آزمایش، سرسمپلر، بشر و.... با اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه استریل کردیم. سرم فیزیولوژی مورد استفاده در تمام مراحل آزمایش استریل بود و از طریق حل کردن ۸/۵ گرم پودر نمک NaCl در آب مقطر و رساندن حجم آن در بالن ژوژه به ۱۰۰۰cc تهیه و با اتوکلاو استریل گردید.

روش کار

تهیه اسانس ها و عصاره های گیاهی:

گیاهان مختلف توسط متخصص گیاه شناسی از مزرعه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج شناسایی و جمع آوری شدند. یک نمونه از گیاهان، در پژوهشکده ثبت و نگهداری و بقیه در سایه خشک شد. به منظور استخراج بهتر اسانس، نمونه های خشک شده از گیاهان شامل برگ ها، ساقه ها و سرشاخه ها به وسیله دستگاه آسیاب خرد گردید. برای جلوگیری از هدر رفتن اسانس ها، بعد از خرد شدن، گیاه بلافاصله به دستگاه اسانس گیری منتقل گردید. اسانس گیری به روش تقطیر با آب جوش و توسط دستگاه اسانس گیری کلونجر (Clevenger) که توسط شیشه گری ساخته می شود انجام گردید. طبق این روش پودر قسمت های هوایی گیاه در بالن ریخته شده و به آن آب مقطر اضافه شد و سپس به دستگاه کلونجر متصل گردید. برای تکمیل شدن عمل اسانس گیری تا زمان ثابت ماندن مقدار اسانس، عمل اسانس گیری ادامه یافته (۴ساعت) و پس از خاتمه کار و سرد شدن دستگاه، اسانس استخراج شده به کمک حلال پنتان جداسازی و پس از تبخیر کامل حلال، جهت محاسبه حجم آن، به مزور کوچک منتقل شده و تا زمان آنالیز و بررسی میکروبی دور از نور در یخچال نگهداری شد. بطور خلاصه برای تهیه عصاره گیاهان، پس از خشک کردن و آسیاب کردن آنها (مقدار نیم کیلوگرم) ابتدا توسط اتانول و به وسیله دستگاه پرکولاتور عصاره گیری شدند. این عمل سه بار تکرار و سپس عصاره های حاصل بوسیله دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ گردید. میزان عصاره خشک شده محاسبه و در ظروف پلیت دردار، داخل یخچال تا هنگام آزمایش نگهداری شدند.

تهیه کیست های هیداتیک و استخراج پروتواسکولکس ها:

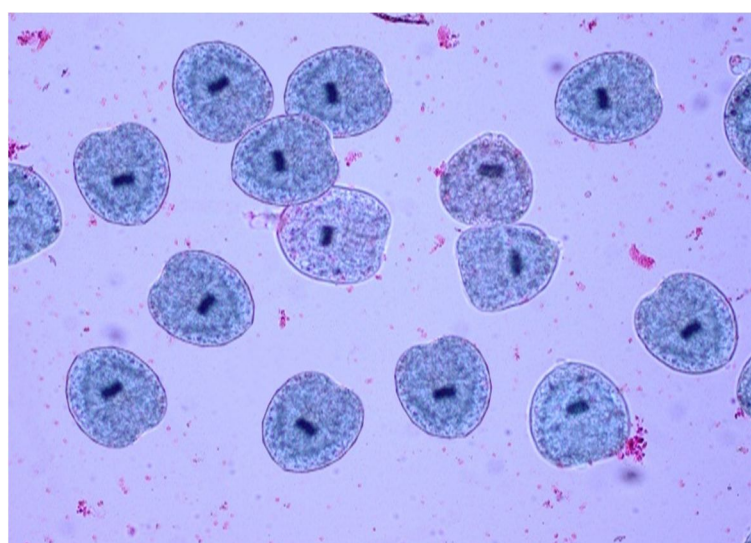
کبد حاوی کیست های هیداتید (شکل ۱) از کشتارگاه قزوین تهیه، به بخش انگل شناسی منتقل و با رعایت شرایط استریل محتویات کیست ها آسپیره و در لوله های استریل به صورت مجزا ریخته شد. کیستهای کلسیفیه و چرکی شده از مطالعه خارج شدند. پس از ضدعفونی سطح کیست ها با بتادین، محتویات کیست ها توسط سرنگ های ۵ و ۱۰ میلی لیتری تخلیه و داخل لوله های آزمایش استریل ریخته شد. کیست ها به کمک میکروسکوپ نوری از نظر باروری مورد بررسی قرار گرفتند. در صورت باروری کیست ها، *viability* (زنده بودن) پروتواسکولکس ها توسط رنگ آمیزی با اتوزین ۱/۰٪ و از روی حرکت سلول های شعله شمعی مورد ارزیابی قرار گرفت. کیست هایی که *viability* آنها بیش از ۹۰٪ بود جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند (۱۶۱، ۱۶۲).

بررسی اثر پروتواسکولکسیدال اسانس یا عصاره گیاهان:

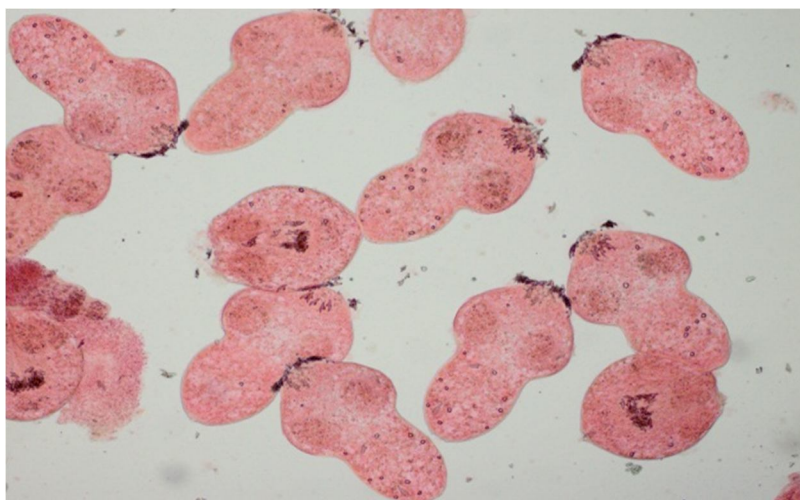
در این مطالعه ۶ غلظت از اسانس یا عصاره هر کدام از گیاهان مورد آزمایش (۳، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه با پروتواسکولکس های جمع آوری شده مجاور گردید. برای تهیه غلظت های مذکور، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم از اسانس یا عصاره گیاهان یاد شده با حدود ۹ میلی لیتر نرمال سالین در لوله های جداگانه مخلوط و جهت سهولت در حل شدن اسانس یا عصاره گیاهان در نرمال سالین، به هر لوله ۰/۳ میلی لیتر DMSO اضافه و لوله ها با مگنت بهم زده شد و در نهایت حجم مخلوط با نرمال سالین به ۱۰ میلی لیتر رسید. در هر لوله آزمایش ۲/۵ میلی لیتر از محلول مذکور ریخته شده و روی آن ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه ها که حاوی حدود ۱۰۰۰ پروتواسکولکس بود اضافه شد. محتویات لوله ها در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و بعد از مدت

زمانهای مذکور، قسمت رویی لوله ها توسط پی پت پاستور حذف شد. روی رسوب حاصله در هر لوله یک میلی لیتر اتوزین ۱/۰٪ اضافه و بخوبی مخلوط گردید. بعد از ۱۵ دقیقه انکوباسیون، قسمت رویی حذف و از رسوب باقی مانده یک گسترش تهیه و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. با شمارش پروتواسکولکس های رنگ شده (مرده) و رنگ نشده (زنده) (حدود ۷۰۰ پروتواسکولکس) در صد پروتواسکولکس های مرده مشخص شد. برای اطمینان از صحت آزمایشات، از گروه کنترل (بدون اسانس یا عصاره گیاهان) استفاده شد (شکل شماره ۶، ۵). آزمایشات سه بار تکرار گردید (۲۱، ۵۷، ۶۰، ۱۶۳).

* البته عصاره کافور تنها عصاره ای بود که برای تهیه غلظت های مختلف آن در حجم های متفاوت فقط از حلال DMSO استفاده شد (به دلیل حل نشدن این عصاره در نرمال سالین). با توجه به این که احتمال داده می شد حلال DMSO اثر کشندگی روی پروتواسکولکس ها و همچنین سلول های دندریتیک داشته باشد برای اطمینان، در طی انجام تمام مراحل آزمایش از کنترل DMSO هم استفاده شد و روی پروتواسکولکس ها و سلول های دندریتیک اثر کشندگی مشاهده نشد.



شکل (۵): پروتواسکولکس های زنده قبل از مواجهه با عصاره و اسانس گیاهان دارویی



شکل (۶): پروتواسکولکس های مرده بعد از مواجهه با عصاره و اسانس گیاهان دارویی

جداسازی، تخلیص و کشت سلولی سلولهای دندریتیک (DCs) با روش بید مغناطیسی یا

(MACS) Magntic Cell Sorting

به طور کلی سلولهای دندریتیک دارای مارکر $CD11c^+$ می باشند. بدین منظور کیت جداسازی سلول دندریتیک (Mouse $CD11C^+$ Dendritic Cell Isolation Kit) از شرکت Miltenyibiotec کشور آلمان خریداری شد. MACS روشی است که سلولی خاص با کمک آنتی بادی منوکلونال اختصاصی، بید مغناطیسی و ستون، جداسازی می گردند. مزیت این روش در جدا نمودن سلول، دقت، حساسیت و درجه خلوص بالا است. برای جداسازی و تخلیص این رده سلولی از موش های با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته ای که از انیستیتو رازی تهران خریداری و در شرایط غذا، نور و دمای استاندارد نگهداری شد. سپس بعد از کشتن موش، طحال را جدا کرده و با کمک آنزیم کلاژناز، هضم بافت طحال و آزادسازی سلولها انجام شد. در مرحله بعد برای دستیابی به سلولهای دندریتیک، از نایکودنز جهت جداسازی و تهیه سلولهای تک هسته ای با گرادیان کم استفاده شد.

سپس طبق دستور کیت جداسازی سلول، با کمک آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصی و ستون ها، تخلیص سلولی انجام گردید. به طور خلاصه سلولهای T, B, NK با کمک آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصی ضد شاخص های سلولهای مورد نظر و با کمک ستون LD و Midi MACS Separator از سوسپانسیون سلولی حذف شده و نتیجه این مرحله حصول سلولهای دندریتیک تخلیص شده با مارکر $CD11c^{+}$ بود. بعد از جدا سازی و تخلیص سلولهای دندریتیک با مارکر $CD11c^{+}$ ، سلولهای مذکور با روش فلوسیتومتری تایید شدند. همچنین برای بررسی بلوغ سلولی، گروه های مختلف مورد آزمایش بعد از کشت با اسانس یا عصاره گیاهان پروتواسکولیسیدال با غلظت های $10 \mu\text{g/ml}$ ، 50 و 100 به همراه LPS در محیط کشت سلولی (RPMI-1640) همراه با FCS (10%) با آنتی بادیهای منوکلونال فلورسنت و ایزوتیپ کنترل مربوطه جهت تشخیص مارکرهای $CD11c$, MHCII, $CD80$ فلوسیتومتری انجام شد و بر اساس مقدار نوری که از دستگاه حاصل و به صورت درصد با استفاده از نرم افزار BMI گزارش گردید.

فصل پنجم

یافته ها

در این مطالعه اثر عصاره گیاهان تخم کدو، تنباکو، چای کوهی، مورد، کاکوتی و کافور و اثر اسانس گیاهان اسطوخودوس و دارچین با غلظت های ۳، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml در مدت زمانهای مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه بر روی پروتواسکولکس ها مورد بررسی قرار گرفت. کلرور سدیم ۰/۹٪ بعنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. آزمایش ها را سه بار تکرار شد که میانگین اثر پروتواسکولیسیدال هر کدام از گیاهان مذکور در غلظت ها و مدت زمان های مختلف در جداول شماره ۲ تا ۹ خلاصه شده است.

عصاره تخم کدو در تمامی غلظت های مورد استفاده و مدت زمان های مواجهه، تاثیر قابل ملاحظه ای روی پروتواسکولکس ها نداشت (جدول شماره ۲). عصاره گیاه تنباکو در همه غلظت های مورد استفاده بجز ۱۰۰ mg/ml و در تمامی مدت زمان های مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت. در غلظت ۱۰۰ mg/ml در ۱۰ دقیقه مواجهه باعث مرگ ۹۱/۱۹٪ پروتواسکولکس ها و در مدت زمان های مواجهه دیگر (۲۰ تا ۶۰ دقیقه) باعث از بین رفتن ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها شد (جدول شماره ۳).

عصاره گیاه چای کوهی در غلظت های ۳ تا ۲۵ mg/ml، در تمامی مدت زمان های مواجهه، تاثیر قابل توجهی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی با غلظت ۵۰ mg/ml بعد از ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه مواجهه، به ترتیب ۷۰/۹۰، ۷۵/۳۵، ۹۳/۲۳ و ۹۹/۳۲ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد و

در غلظت ۱۰۰ mg/ml در ۱۰ دقیقه مواجهه، باعث مرگ ۹۸/۲۵ درصد از پروتواسکولکس ها شد و در بقیه مدت زمان های مواجهه، تاثیر آن ۱۰۰٪ بود (جدول شماره ۴). عصاره گیاه مورد با غلظت های ۳، ۵، و ۱۰ mg/ml در تمامی مدت زمان های مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی در غلظت ۲۵ mg/ml در ۳۰ و ۴۰ به ترتیب ۵۲/۲۷ و ۸۲/۴۶ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد و در ۵۰ و ۶۰ این اثر ۱۰۰٪ بود. با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml در تمامی مدت زمان های مواجهه بجز ۱۰ دقیقه، تاثیر گیاه ۱۰۰٪ بود. در مدت زمان مواجهه ۱۰ دقیقه با غلظت ۵۰ mg/ml این اثر ۶۶/۴۷٪ ارزیابی شد (جدول شماره ۵). اثر عصاره گیاه کاکوتی با غلظت ۳ در ۱۰ تا ۴۰ و با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمان های مواجهه ۱۰ و ۲۰ دقیقه روی پروتواسکولکس ها، غیرقابل ملاحظه بود ولی با غلظت ۳ mg/ml در ۵۰ و ۶۰ دقیقه به ترتیب ۴۷/۹۴٪، ۵۰/۱۱٪ و با غلظت ۵ mg/ml در ۳۰، ۴۰، ۵۰، و ۶۰ به ترتیب ۴۸/۸۹، ۵۲/۰۶، ۹۶/۰۷ و ۹۷/۸۶ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد. در غلظت ۱۰ mg/ml در زمان ۱۰ دقیقه تاثیر بر روی پروتواسکولکس ها، ۶۹/۸۸٪ بود ولی با این غلظت در بقیه مدت زمانها و با بقیه غلظت ها در تمامی مدت زمان های مواجهه تاثیر ۱۰۰٪ بود (جدول شماره ۶). اسانس گیاه اسطوخودوس با غلظت ۳ mg/ml در همه مدت زمانهای مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی با غلظت ۵ mg/ml در ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه به ترتیب تاثیرش بر روی پروتواسکولکس ها ۶۳/۹۱، ۸۵/۴۲، ۹۰/۹۸، ۹۵/۲۴، ۹۶/۶۶ و ۱۰۰ درصد بود. در بقیه غلظت ها و در تمامی مدت زمان های مواجهه بجز ۱۰ و ۱۰۰ mg/ml ۱۰ دقیقه مواجهه این اثر ۱۰۰٪ بود. در غلظت ۱۰ mg/ml اثر آن روی پروتواسکولکس ها در ۱۰ دقیقه ۹۹/۳۴٪ گزارش گردید (جدول شماره ۷). اسانس گیاه دارچین با غلظت های ۳ و ۵ mg/ml اثرش فقط در ۱۰ تا ۳۰ دقیقه مواجهه ناچیز بود ولی در مدت زمانهای مواجهه ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه با غلظت ۳ mg/ml این اثر، قابل ملاحظه بوده

و به ترتیب ۸۴/۹۳، ۹۱/۴۶ و ۹۹/۲۷ درصد گزارش شده است و با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه این اثر به ترتیب ۹۶/۴۴، ۹۹/۶۶ و ۱۰۰ درصد بود. در این گیاه با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب ۴۷/۱۰، ۹۲/۲۸ و ۹۷/۲۲ درصد و با این غلظت از ۴۰ دقیقه به بعد و با غلظت ۲۵ mg/ml از ۳۰ دقیقه به بعد و در غلظت های ۵۰ mg/ml و ۱۰۰ در تمامی مدت زمانهای مواجهه این اثر ۱۰۰٪ بود. البته غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه ۱۰ و ۲۰ دقیقه به ترتیب به میزان ۹۷/۲۵ و ۹۹/۲۰ درصد روی مرگ پروتواسکولکس ها موثر بود (جدول شماره ۸). اثر عصاره گیاه کافور روی پروتواسکولکس ها کاملاً قابل توجه بود. چنانکه در غلظت ۳ mg/ml و در زمان ۱۰ دقیقه مواجهه ۹۷/۵۰٪ پروتواسکولکس ها را از بین برد ولی با همین غلظت در مدت زمانهای مواجهه دیگر و با سایر غلظت ها در تمامی مدت زمانهای مواجهه این اثر ۱۰۰٪ بود (جدول شماره ۹).

با استفاده از تست Tukey اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال هر کدام از غلظتهای ۳، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ عصاره گیاهان تخم کدو، تنباکو، چای کوهی، مورد، کاکوتی و کافور و اسانس گیاهان اسطوخودوس و دارچین در مدت زمانهای مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت و همانطور که جداول شماره ۱۰ تا ۴۳ نشان می دهند هر کدام از گیاهان با غلظتهای مختلف، وقتی در مدت زمانهای ۱۰ تا ۶۰ دقیقه با پروتواسکولکسها مواجه شدند، ۱ تا ۵ گروه همگنی ایجاد نموده که این گروه ها ارتباطشان با همدیگر معنی دار نبوده ولی در ارتباط با گروه های دیگر این ارتباط معنی دار بود.

جدول شماره ۲: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره تخم گیاه کدو در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	5.77 (54/936)	6.08 (54/888)	8.16 (72/882)	10.70 (92/860)	11.98 (104/868)	12.68 (108/852)
	2	4.62 (45/975)	4.92 (36/732)	6.77 (63/930)	9.00 (72/800)	11.00 (86/782)	12.36 (102/825)
	3	3.94 (35/889)	4.02 (39/969)	5.95 (55/925)	8.54 (70/820)	10.13 (93/918)	12.26 (95/775)
	Total	4.79 (134/2800)	4.98 (129/2589)	6.94 (190/2737)	9.44 (234/2480)	11.02 (283/2568)	12.44 (305/2452)
5	1	8.56 (84/981)	10.47 (80/764)	11.01(76/690)	11.47 (100/872)	12.66 (100/790)	13.91 (117/841)
	2	8.09 (76/940)	8.65 (75/867)	9.73 (75/771)	10.38 (88/848)	10.96 (96/876)	13.71(108/788)
	3	7.26 (68/936)	8.04 (69/858)	8.78 (62/706)	8.98 (72/802)	11.11 (95/855)	12.50 (108/864)
	Total	7.98 (228/2857)	9.00 (224/2489)	9.83 (213/2167)	10.31 (260/2522)	11.54 (291/2521)	13.36 (333/2493)
10	1	11.92 (92/772)	11.21 (96/856)	11.45 (102/891)	12.17 (84/690)	13.92 (110/790)	14.52 (122/840)
	2	10.63 (96/903)	10.81 (80/740)	10.48 (96/916)	11.19 (94/840)	12.18 (96/788)	13.92 (142/1020)
	3	9.84 (72/732)	11.20 (86/768)	11.45 (104/908)	11.90 (100/840)	12.43 (90/724)	13.02 (125/960)
	Total	10.80 (260/2407)	11.08 (262/2364)	11.12 (302/2715)	11.73 (278/2370)	12.86 (296/2302)	13.79 (389/2820)
25	1	12.31 (96/780)	13.17 (108/820)	14.33 (96/670)	14.83 (124/836)	15.53 (128/824)	16.99 (122/718)
	2	11.33 (94/830)	12.24 (104/850)	12.44 (112/900)	12.95 (100/772)	14.80 (116/784)	15.73 (152/966)
	3	10.00 (84/840)	11.88 (82/690)	12.20 (108/885)	12.50 (120/960)	13.33 (120/900)	13.46 (112/832)
	Total	11.18 (274/2450)	12.46 (294/2360)	12.87 (316/2455)	13.04 (344/2568)	14.51 (364/2508)	15.34 (386/2516)
50	1	13.54 (117/864)	14.25 (110/772)	14.93 (120/804)	15.51 (156/1006)	16.05 (156/972)	17.47 (152/870)
	2	12.30 (90/732)	13.80 (138/1000)	13.91 (128/920)	14.59 (122/836)	15.73 (152/966)	16.04 (162/1010)
	3	10.47 (93/888)	12.50 (98/784)	12.67 (114/900)	13.09 (106/810)	13.64 (120/880)	13.72 (124/904)
	Total	12.08 (300/2484)	13.54 (346/2556)	13.80 (362/2624)	14.48 (384/2652)	15.19 (428/2818)	15.73 (438/2784)
100	1	14.36 (118/822)	15.53 (128/824)	16.89 (150/888)	17.92 (165/921)	18.16 (138/760)	22.83 (226/990)
	2	13.76 (123/894)	14.90 (146/980)	14.20 (140/986)	16.89 (150/888)	16.94 (124/732)	20.87 (154/738)
	3	10.91 (96/880)	12.75 (114/894)	13.06 (105/804)	13.56 (118/870)	13.87 (129/930)	13.90 (123/885)
	Total	12.98 (337/2596)	14.38 (388/2698)	14.75 (395/2678)	16.16 (433/2679)	16.14 (391/2422)	19.25 (503/2613)
Control	1	2.85 (24/843)	3.26 (24/736)	3.77 (30/795)	4.00 (28/700)	5.95 (45/756)	6.22 (46/740)
	2	2.42 (24/990)	2.90 (22/758)	3.24 (22/678)	3.70 (27/729)	3.97 (30/756)	4.15 (40/964)
	3	3.51 (32/912)	3.56 (32/900)	5.62 (42/747)	7.26 (51/702)	8.16 (72/882)	8.23 (78/948)
	Total	2.91 (80/2745)	3.26 (78/2394)	4.23 (94/2220)	4.97 (106/2131)	6.14 (147/2394)	6.18 (164/2652)

جدول شماره ۳: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه تنباکو در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	8.02 (56/698)	8.31 (74/890)	8.98 (69/768)	11 (90/818)	10.47 (90/860)	11.84 (114/963)
	2	8.61 (72/836)	8.63 (66/765)	9.40 (82/872)	11.76 (108/918)	12.40 (122/984)	12.00 (90/750)
	3	5.49 (40/728)	5.73 (45/786)	7.86 (72/916)	9.44 (85/900)	11.00 (93/836)	10.53 (96/912)
	Total	7.43 (168/2262)	7.58 (185/2441)	8.72 (223/2556)	10.74 (283/2636)	11.34 (304/2680)	11.43 (300/2625)
5	1	8.79 (53/603)	11.36 (108/951)	11.54 (78/676)	12.03 (102/848)	12.90 (106/822)	12.87 (132/1026)
	2	9.27 (72/777)	11.73 (114/972)	11.85 (100/844)	12.98 (128/986)	13.21 (112/848)	13.89 (120/864)
	3	7.94 (68/856)	9.47 (90/950)	9.76 (80/820)	10.87 (90/828)	11.51 (96/834)	10.98 (84/765)
	Total	8.63 (193/2236)	10.86 (312/2873)	11.03 (258/2340)	12.02 (320/2662)	12.54 (314/2504)	12.66 (336/2655)
10	1	9.24 (90/974)	11.49 (116/1010)	11.55 (105/909)	13.99 (110/786)	14.07 (110/782)	13.90 (108/777)
	2	9.48 (92/970)	11.76 (100/850)	12.18 (94/772)	14.25 (132/926)	14.29 (110/770)	14.92 (134/898)
	3	8.47 (63/744)	9.94 (80/805)	11.32 (96/848)	12.59 (90/715)	12.00 (96/800)	11.64 (88/756)
	Total	9.11 (245/2688)	11.11 (296/2665)	11.66 (295/2529)	13.68 (332/2427)	13.44 (316/2352)	13.57 (330/2431)
25	1	17.73 (150/846)	18.29 (150/820)	19.88 (206/1036)	19.70 (160/812)	19.22 (158/822)	20.38 (214/1050)
	2	17.93 (156/870)	18.89 (190/1006)	20.15 (165/819)	20.16 (200/992)	21.05 (168/798)	21.14 (208/984)
	3	17.39 (160/920)	17.59 (152/864)	17.45 (156/894)	17.81 (176/988)	17.81 (171/960)	18.73 (130/694)
	Total	17.68 (466/2636)	18.29 (492/2690)	19.17 (527/2749)	19.20 (536/2792)	19.26 (497/2580)	20.23 (552/2728)
50	1	18.30 (172/940)	21.01 (166/790)	24.94 (216/866)	25.90 (216/834)	26.94 (222/824)	28.65 (204/712)
	2	18.68 (130/696)	23.01 (168/730)	26.60 (225/846)	28.97 (288/994)	27.44 (219/798)	29.54 (296/1002)
	3	17.44 (136/780)	18.40 (159/864)	24.82 (210/846)	25.69 (224/872)	26.27 (248/944)	27.93 (200/716)
	Total	18.13 (438/2416)	20.68 (493/2384)	25.45 (651/2558)	26.96 (728/2700)	26.85 (689/2566)	28.81 (700/2430)
100	1	90.95 (764/840)	100 (962/962)	100 (828/828)	100 (918/918)	100 (735/735)	100 (982/982)
	2	92.93 (644/693)	100 (984/984)	100 (992/992)	100 (984/984)	100 (982/982)	100 (950/950)
	3	89.94 (715/795)	100 (861/861)	100 (930/930)	100 (714/714)	100 (952/952)	100 (800/800)
	Total	91.19 (2123/2328)	100 (2807/2807)	100 (2750/2750)	100 (2616/2616)	100 (2669/2669)	100 (2732/2732)
Control	1	7.10 (72/1014)	8.02 (56/698)	8.62 (60/696)	8.96 (90/1004)	9.33 (84/900)	10.47 (84/802)
	2	7.96 (78/980)	8.33 (70/840)	8.90 (78/876)	9.55 (102/1068)	10.28 (96/934)	10.99 (82/746)
	3	4.90 (40/816)	4.55 (36/792)	5.65 (46/814)	5.91 (44/744)	6.28 (60/955)	6.67 (46/690)
	Total	6.76 (190/2810)	6.95 (162/2330)	7.71 (184/2386)	8.38 (236/2816)	8.61 (240/2789)	9.47 (212/2238)

جدول شماره ۴: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت‌های مختلف عصاره گیاه چای کوهی در مدت زمان‌های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	2.98 (24/806)	4.62 (44/952)	9.09 (88/968)	12.32 (88/714)	12.86 (90/700)	13.39 (102/762)
	2	2.48 (18/726)	4.97 (38/764)	10.89 (77/707)	13.33 (104/780)	14.86 (122/820)	15.79 (132/836)
	3	2.98 (20/672)	5.92 (50/844)	11.75 (114/970)	13.92 (110/790)	15.50 (124/800)	16.47 (126/765)
	Total	2.81 (62/2204)	5.16 (132/2560)	10.55 (279/2645)	13.22 (302/2284)	14.48 (336/2320)	15.23 (360/2363)
5	1	6.48 (56/864)	6.94 (50/720)	10.04 (100/996)	15.49 (132/852)	18.85 (170/902)	20.36 (160/786)
	2	10.14 (84/828)	10.84 (98/904)	14.58 (140/960)	16.86 (116/688)	21.88 (186/850)	21.84 (180/824)
	3	10.50 (76/724)	11.16 (110/986)	15.38 (144/936)	17.07 (112/656)	22.50 (216/960)	22.45 (176/784)
	Total	8.94 (216/2416)	9.89 (258/2610)	13.28 (384/2892)	16.39 (360/2196)	21.09 (572/2712)	21.55 (516/2394)
10	1	7.16 (74/1034)	8.32 (80/962)	18.00 (176/978)	17.70 (148/836)	20.33 (222/1092)	30.45 (232/762)
	2	11.81 (98/830)	14.52 (135/930)	18.73 (150/801)	19.62 (186/948)	24.13 (194/804)	32.00 (272/850)
	3	12.66 (100/790)	14.71 (118/802)	15.96 (120/752)	19.79 (154/778)	24.93 (188/754)	32.99 (254/770)
	Total	10.25 (272/2654)	12.36 (333/2694)	17.62 (446/2531)	19.05 (488/2562)	22.79 (604/2650)	31.82 (758/2382)
25	1	8.76 (102/1164)	18.54 (142/766)	14.87 (174/1170)	23.21 (188/810)	27.65 (224/810)	70.06 (660/942)
	2	13.89 (100/720)	21.00 (160/762)	24.43 (192/786)	23.80 (178/748)	29.52 (217/735)	71.85 (582/810)
	3	14.29 (108/756)	22.76 (168/738)	24.85 (254/1022)	24.13 (194/804)	30.34 (270/890)	74.30 (584/786)
	Total	11.74 (310/2640)	20.74 (470/2266)	20.82 (620/2978)	23.71 (560/2362)	29.20 (711/2435)	71.95 (1826/2538)
50	1	24.32 (216/888)	31.25 (280/896)	70.06 (660/942)	73.40 (712/970)	91.93 (638/694)	98.77 (644/652)
	2	13.60 (124/912)	49.40 (414/838)	70.88 (594/838)	75.97 (468/616)	92.75 (640/690)	99.00 (794/802)
	3	22.47 (164/730)	50.00 (412/824)	71.94 (564/784)	77.46 (550/710)	94.76 (760/802)	100 (900/900)
	Total	19.92 (504/2530)	43.24 (1106/2558)	70.90 (1818/2564)	75.35 (1730/2296)	93.23 (2038/2186)	99.32 (2338/2354)
100	1	100 (902/902)	100 (972/972)	100 (802/802)	100 (820/820)	100 (790/790)	100 (782/782)
	2	96.05 (730/760)	100 (822/822)	100 (654/654)	100 (972/972)	100 (772/772)	100 (976/976)
	3	98.35 (836/850)	100 (784/784)	100 (806/806)	100 (742/742)	100 (830/830)	100 (846/846)
	Total	98.25 (2468/2512)	100 (2578/2578)	100 (2262/2262)	100 (2534/2534)	100 (2392/2392)	100 (2604/2604)
Control	1	1.17 (9/768)	2.32 (17/734)	2.56 (18/702)	4.22 (30/711)	4.62 (44/952)	7.64 (72/942)
	2	2.31 (18/780)	2.10 (14/668)	2.49 (18/722)	3.23 (24/744)	4.90 (38/776)	8.18 (64/782)
	3	1.96 (18/918)	2.00 (14/700)	2.92 (24/822)	3.42 (26/760)	5.14 (44/856)	8.64 (90/1042)
	Total	1.82 (45/2466)	2.14 (45/2102)	2.67 (60/2246)	3.61 (80/2215)	4.88 (126/2584)	8.17 (226/2766)

جدول شماره ۵: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه مورد در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	5.45 (51/936)	8.33 (80/960)	9.05 (74/818)	10.71 (84/784)	11.11 (100/900)	21.83 (215/985)
	2	5.95 (45/756)	8.04 (72/896)	10.14 (84/828)	11.94 (86/720)	13.37 (112/838)	20.91 (184/880)
	3	4.49 (36/801)	7.16 (56/782)	8.96 (86/960)	10.03 (80/798)	12.20 (112/918)	22.31 (166/744)
	Total	5.29 (132/2493)	7.88 (208/2638)	9.36 (244/2606)	10.86 (250/2302)	12.20 (324/2656)	21.66 (565/2609)
5	1	5.85 (44/752)	9.38 (84/896)	11.11 (110/990)	12.35 (90/729)	12.50 (120/960)	22.27 (200/898)
	2	6.91 (50/724)	10.98 (76/692)	10.87 (90/828)	11.96 (122/1020)	13.72 (135/984)	24.60 (186/756)
	3	6.38 (44/690)	9.35 (72/770)	9.94 (96/966)	12.32 (100/812)	12.92 (108/836)	27.27 (270/990)
	Total	6.37 (138/2166)	9.84 (232/2358)	10.63 (296/2784)	12.18 (312/2561)	13.06 (363/2780)	24.81 (656/2644)
10	1	10.27 (92/896)	11.76 (80/680)	13.33 (112/840)	13.25 (126/951)	31.25 (300/960)	22.27 (200/898)
	2	10.50 (72/686)	11.65 (116/996)	13.37 (112/838)	15.08 (136/902)	38.38 (274/714)	24.60 (186/756)
	3	9.09 (80/880)	10.00 (75/750)	12.41 (102/822)	14.84 (146/984)	39.62 (378/954)	27.27 (270/990)
	Total	9.91 (244/2462)	11.17 (271/2426)	13.04 (326/2500)	14.38 (408/2837)	36.23 (952/2628)	24.81 (656/2644)
25	1	23 (198/861)	46.22 (342/740)	50 (474/948)	80.95 (680/840)	100 (925/925)	100 (920/920)
	2	20.19 (170/842)	49.88 (420/842)	54.20 (400/738)	82.96 (750/904)	100 (920/920)	100 (910/910)
	3	19.65 (178/906)	44.53 (334/750)	53.31 (370/694)	83.69 (544/650)	100 (830/830)	100 (682/682)
	Total	20.93 (546/2609)	47 (1096/2332)	52.27 (1244/2380)	82.46 (1974/2394)	100 (2675/2675)	100 (2512/2512)
50	1	65.92 (770/1168)	100 (764/764)	100 (945/945)	100 (783/783)	100 (808/808)	100 (700/700)
	2	67.33 (540/802)	100 (916/916)	100 (816/816)	100 (714/714)	100 (918/918)	100 (822/822)
	3	66.40 (506/762)	100 (826/826)	100 (722/722)	100 (796/796)	100 (718/718)	100 (776/776)
	Total	66.47 (1816/2732)	100 (2506/2506)	100 (2483/2483)	100 (2293/2293)	100 (2444/2444)	100 (2298/2298)
100	1	100 (960/960)	100 (975/975)	100 (724/724)	100 (894/894)	100 (872/872)	100 (840/840)
	2	100 (832/832)	100 (988/988)	100 (714/714)	100 (722/722)	100 (800/800)	100 (810/810)
	3	100 (786/786)	100 (858/858)	100 (796/796)	100 (816/816)	100 (842/842)	100 (778/778)
	Total	100 (2578/2578)	100 (2821/2821)	100 (2234/2234)	100 (2432/2432)	100 (2514/2514)	100 (2428/2428)
Control	1	4.31 (34/788)	6.92 (68/982)	6.98 (66/945)	7.06 (54/765)	8.04 (72/896)	12.85 (128/996)
	2	3.23 (30/930)	4.92 (48/975)	5.11 (36/704)	6.84 (52/760)	6.01 (44/732)	8.95 (70/782)
	3	3.33 (26/780)	4.99 (38/762)	5.04 (42/834)	6.51 (56/860)	5.91 (50/846)	9.02 (88/976)
	Total	3.60 (90/2498)	5.66 (154/2719)	5.80 (144/2483)	6.79 (162/2385)	6.71 (166/2474)	10.38 (286/2754)

جدول شماره ۶: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه کاکوتی در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)

غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	5.66(45/795)	8.52(70/822)	23.83(183/768)	27.30(202/740)	50.00(480/960)	54.77(534/975)
	2	6.84(45/658)	9.51(74/778)	24.95(240/962)	29.26(220/752)	53.91(606/1124)	55.00(484/880)
	3	4.40(34/772)	7.53(70/930)	19.74(180/912)	21.37(168/786)	39.20(390/995)	40.54(375/925)
	Total	5.57(124/2225)	8.46(214/2530)	22.82(603/2642)	25.90(590/2278)	47.94(1476/3079)	50.11(1393/2780)
5	1	6.83(60/878)	21.38(186/870)	49.60(492/992)	52.82(412/780)	97.96(864/882)	98.51(858/871)
	2	7.31(50/684)	23.53(184/782)	54.31(435/801)	54.02(470/870)	99.00(992/1002)	99.76(818/820)
	3	5.79(56/968)	19.28(160/830)	43.12(376/872)	49.69(483/972)	91.94(1026/1116)	95.48(845/885)
	Total	6.56(166/2530)	21.35(530/2482)	48.89(1303/2665)	52.06(1365/2622)	96.07(2882/3000)	97.86(2521/2576)
10	1	70.82(602/850)	100(864/864)	100(762/762)	100(829/829)	100(984/984)	100(839/839)
	2	71.88(726/1010)	100(778/778)	100(846/846)	100(996/996)	100(802/802)	100(958/958)
	3	66.67(588/882)	100(840/840)	100(975/975)	100(920/920)	100(968/968)	100(890/890)
	Total	69.88(1916/2742)	100(2482/2482)	100(2583/2583)	100(2745/2745)	100(2754/2754)	100(2687/2687)
25	1	100(930/930)	100(813/813)	100(986/986)	100(774/774)	100(912/912)	100(962/962)
	2	100(965/965)	100(838/838)	100(813/813)	100(778/778)	100(972/972)	100(949/949)
	3	100(858/858)	100(820/820)	100(880/880)	100(955/955)	100(963/963)	100(984/984)
	Total	100(2753/2753)	100(2471/2471)	100(2679/2679)	100(2507/2507)	100(2847/2847)	100(2895/2895)
50	1	100(819/819)	100(858/858)	100(970/970)	100(878/878)	100(858/858)	100(810/810)
	2	100(956/956)	100(807/807)	100(982/982)	100(807/807)	100(981/981)	100(836/836)
	3	100(816/816)	100(960/960)	100(825/825)	100(872/872)	100(910/910)	100(925/925)
	Total	100(2591/2591)	100(2625/2625)	100(2777/2777)	100(2557/2557)	100(2749/2749)	100(2571/2571)
100	1	100(974/974)	100(806/806)	100(915/915)	100(856/856)	100(846/846)	100(854/854)
	2	100(807/807)	100(996/996)	100(922/922)	100(936/936)	100(878/878)	100(992/992)
	3	100(945/945)	100(848/848)	100(928/928)	100(860/860)	100(873/873)	100(808/808)
	Total	100(2726/2726)	100(2650/2650)	100(2765/2765)	100(2652/2652)	100(2597/2597)	100(2654/2654)
Control	1	3.87 (34/878)	4.69 (40/852)	6.44 (63/978)	6.97 (69/990)	7.59 (58/764)	8.27 (62/750)
	2	4.71 (36/765)	5.53 (44/796)	7.52 (60/798)	8.00 (72/900)	9.28 (80/862)	10.28 (78/759)
	3	4.35 (40/920)	4.41 (36/816)	4.88 (48/984)	5.03 (40/795)	5.47 (49/896)	5.75 (50/870)
	Total	4.29 (110/2563)	4.87 (120/2464)	6.20 (171/2760)	6.74 (181/2685)	7.41 (187/2522)	7.99 (190/2379)

جدول شماره ۷: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت‌های مختلف اسانس گیاه اسطوخودوس در مدت زمان‌های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	3.51 (32/912)	4.63 (45/972)	6.65 (63/948)	8.64 (84/972)	13.28 (98/738)	16.52 (112/678)
	2	4.35 (28/644)	6.40 (52/812)	8.65 (72/832)	9.32 (87/933)	13.53 (112/828)	18.00 (158/878)
	3	5.56 (48/864)	8.30 (74/892)	10.13 (78/770)	11.21 (78/696)	15.79 (114/722)	19.35 (156/806)
	Total	4.46 (108/2420)	6.39 (171/2676)	8.35 (213/2550)	9.57 (249/2601)	14.16 (324/2288)	18.04 (426/2362)
5	1	61.92 (426/688)	84.38 (648/768)	89.87 (852/948)	93.59 (788/842)	95.31 (812/852)	100 (969/969)
	2	63.41 (624/984)	83.57 (600/718)	91.01 (668/734)	95.34 (778/816)	96.89 (748/772)	100 (878/878)
	3	66.67 (448/672)	87.52 (884/1010)	92.17 (800/868)	96.84 (796/822)	97/84 (814/832)	100 (730//730)
	Total	63.91 (1498/2344)	85.42 (2132/2496)	90.98 (2320/2550)	95.24 (2362/2480)	96.66 (2374/2456)	100 (2577/2577)
10	1	97.95 (764/780)	100 (844/844)	100 (986/986)	100 (770/770)	100 (960/960)	100 (856/856)
	2	100 (870/870)	100 (796/796)	100 (778/778)	100 (730/730)	100 (812/812)	100 (748/748)
	3	100 (780/780)	100 (722/722)	100 (978/978)	100 (776/776)	100 (772/772)	100 (866/866)
	Total	99.34 (2414/2430)	100 (2362/2362)	100 (2742/2742)	100 (2276/2276)	100 (2544/2544)	100 (2470/2470)
25	1	100 (696/696)	100 (762/762)	100 (762/762)	100 (848/848)	100 (758/758)	100 (986/986)
	2	100 (820/820)	100 (720/720)	100 (750/750)	100 (788/788)	100 (990/990)	100 (942/942)
	3	100 (908/908)	100 (692/692)	100 (806/806)	100 (810/810)	100 (852/852)	100 (910/910)
	Total	100 (2424/2424)	100 (2174/2174)	100 (2318/2318)	100 (2446/2446)	100 (2600/2600)	100 (2838/2838)
50	1	100 (850/850)	100 (932/932)	100 (725/725)	100 (711/711)	100 (822/822)	100 (896/896)
	2	100 (865/865)	100 (902/902)	100 (787/787)	100 (791/791)	100 (855/855)	100 (850/850)
	3	100 (801/801)	100 (914/914)	100 (795/795)	100 (781/781)	100 (799/799)	100 (822/822)
	Total	100 (2516/2516)	100 (2748/2748)	100 (2307/2307)	100 (2283/2283)	100 (2476/2476)	100 (2568/2568)
100	1	100 (900/900)	100 (799/799)	100 (725/725)	100 (922/922)	100 (875/875)	100 (901/901)
	2	100 (906/906)	100 (813/813)	100 (832/832)	100 (909/909)	100 (866/866)	100 (945/945)
	3	100 (970/970)	100 (872/872)	100 (864/864)	100 (889/889)	100 (835/835)	100 (917/917)
	Total	100 (2776/2776)	100 (2484/2484)	100 (2421/2421)	100 (2720/2720)	100 (2576/2576)	100 (2763/2763)
Control	1	1.50 (12/800)	1.80 (12/668)	2.80 (27/966)	3.06 (26/850)	3.14 (30/956)	4.02 (32/796)
	2	2.53 (20/792)	2.93 (26/888)	3.24 (22/678)	3.52 (26/738)	3.77 (28/742)	4.59 (36/784)
	3	2.68 (20/746)	2.96 (24/810)	3.91 (36/921)	4.28 (40/934)	4.75 (45/948)	5.05 (42/832)
	Total	2.22 (52/2338)	2.62 (62/2366)	3.31 (85/2565)	3.65 (92/2522)	3.89 (103/2646)	4.56 (110/2412)

جدول شماره ۸: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف اسانس گیاه دارچین در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس هاپس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)

غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	13.41 (105/783)	15.04 (108/718)	18.13 (180/993)	86.05 (740/860)	98.29 (690/702)	100 (970/970)
	2	13.25 (106/800)	14.49 (124/856)	17.80 (120/674)	84.93 (800/942)	90.24 (610/676)	100 (758/758)
	3	12.62 (82/650)	14.31 (154/1076)	17.48 (174/999)	84.04 (906/1078)	87.52 (884/1010)	98.00 (978/998)
	Total	13.12 (293/2233)	14.57 (386/2650)	17.78 (474/2666)	84.93 (2446/2880)	91.46 (2184/2388)	99.27 (2706/2726)
5	1	16.28 (126/774)	16.83 (153/909)	35.80 (348/972)	98.50 (788/800)	100 (720/720)	100 (846/846)
	2	16.00 (112/700)	15.79 (120/760)	33.97 (286/842)	96.00 (720/750)	100 (762/762)	100 (820/820)
	3	15.91 (147/924)	15.69 (128/816)	33.86 (258/762)	94.81 (768/810)	99.06 (844/852)	100 (762/762)
	Total	16.06 (385/2398)	16.14 (401/2485)	34.63 (892/2576)	96.44 (2276/2360)	99.66 (2326/2334)	100 (2428/2428)
10	1	47.95 (350/730)	93.17 (928/996)	100 (680/680)	100 (994/994)	100 (962/962)	100 (916/916)
	2	47.12 (441/936)	91.92 (774/842)	96.00 (672/700)	100 (939/939)	100 (802/802)	100 (962/962)
	3	46.22 (330/714)	91.71 (974/1062)	96.00 (816/850)	100 (842/842)	100 (798/798)	100 (726/726)
	Total	47.10 (1121/2380)	92.28 (2676/2900)	97.22 (2168/2230)	100 (2775/2775)	100 (2562/2562)	100 (2604/2604)
25	1	100 (832/832)	100 (762/762)	100 (770/770)	100 (957/957)	100 (956/956)	100 (811/811)
	2	96.29 (778/808)	98.78 (648/656)	100 (836/836)	100 (732/732)	100 (812/812)	100 (798/798)
	3	95.07 (656/690)	98.80 (826/836)	100 (750/750)	100 (950/950)	100 (678/678)	100 (876/876)
	Total	97.25 (2266/2330)	99.20 (2236/2254)	100 (2356/2356)	100 (2639/2639)	100 (2446/2446)	100 (2485/2485)
50	1	100 (742/742)	100 (690/690)	100 (785/785)	100 (953/953)	100 (732/732)	100 (899/899)
	2	100 (850/850)	100 (776/776)	100 (826/826)	100 (935/935)	100 (792/792)	100 (871/871)
	3	100 (972/972)	100 (832/832)	100 (854/854)	100 (896/896)	100 (777/777)	100 (888/888)
	Total	100 (2564/2564)	100 (2298/2298)	100 (2465/2465)	100 (2784/2784)	100 (2301/2301)	100 (2658/2658)
100	1	100 (834/834)	100 (811/811)	100 (921/921)	100 (920/920)	100 (725/725)	100 (833/833)
	2	100 (730/730)	100 (860/860)	100 (892/892)	100 (892/892)	100 (745/745)	100 (839/839)
	3	100 (896/896)	100 (885/885)	100 (885/885)	100 (864/864)	100 (801/801)	100 (900/900)
	Total	100 (2460/2460)	100 (2556/2556)	100 (2698/2698)	100 (2676/2676)	100 (2271/2271)	100 (2572/2572)
Control	1	1.67 (12/720)	2.03 (14/688)	2.16 (18/832)	2.38 (20/840)	3.70 (36/972)	4.00 (32/800)
	2	1.66 (12/724)	1.97 (14/712)	2.10 (16/762)	2.12 (18/850)	3.31 (26/786)	3.76 (32/850)
	3	1.60 (10/624)	1.89 (16/846)	1.83 (12/656)	2.05 (16/782)	3.20 (24/750)	3.45 (24/696)
	Total	1.64 (34/2068)	1.96 (44/2246)	2.04 (46/2250)	2.18 (54/2472)	3.43 (86/2508)	3.75 (88/2346)

جدول شماره ۹: اثر پروتواسکولیسیدال غلظت های مختلف عصاره گیاه کافور در مدت زمان های مختلف مواجهه

میانگین مرگ و میر پروتواسکولکس ها پس از مدت زمانهای مواجهه (درصد)							
غلظت (mg/ml)	آزمایشات	10 (min)	20 (min)	30 (min)	40 (min)	50 (min)	60 (min)
3	1	97.94 (1048/1070)	100 (834/834)	100 (951/951)	100 (792/792)	100 (856/856)	100 (813/813)
	2	98.82 (840/850)	100 (796/796)	100 (980/980)	100 (855/855)	100 (889/889)	100 (776/776)
	3	95.85 (924/964)	100 (836/836)	100 (848/848)	100 (920/920)	100 (911/911)	100 (952/952)
	Total	97.50 (2812/2884)	100 (2466/2466)	100 (2779/2779)	100 (2567/2567)	100 (2656/2656)	100 (2541/2541)
5	1	100 (960/960)	100 (811/811)	100 (856/856)	100 (836/836)	100 (891/891)	100 (852/852)
	2	100 (721/721)	100 (996/996)	100 (818/818)	100 (858/858)	100 (960/960)	100 (822/822)
	3	100 (800/800)	100 (852/852)	100 (802/802)	100 (822/822)	100 (866/866)	100 (813/813)
	Total	100 (2481/2481)	100 (2659/2659)	100 (2476/2476)	100 (2516/2516)	100 (2717/2717)	100 (2487/2487)
10	1	100 (910/910)	100 (798/798)	100 (974/974)	100 (770/770)	100 (846/846)	100 (811/811)
	2	100 (888/888)	100 (854/854)	100 (878/878)	100 (956/956)	100 (918/918)	100 (796/796)
	3	100 (966/966)	100 (880/880)	100 (886/886)	100 (970/970)	100 (898/898)	100 (930/930)
	Total	100 (2764/2764)	100 (2532/2532)	100 (2738/2738)	100 (2696/2696)	100 (2662/2662)	100 (2537/2537)
25	1	100 (793/793)	100 (899/899)	100 (980/980)	100 (876/876)	100 (728/728)	100 (930/930)
	2	100 (810/810)	100 (760/760)	100 (873/873)	100 (925/925)	100 (839/839)	100 (992/992)
	3	100 (831/831)	100 (820/820)	100 (724/724)	100 (899/899)	100 (890/890)	100 (846/846)
	Total	100 (2434/2434)	100 (2479/2479)	100 (2577/2577)	100 (2700/2700)	100 (2457/2457)	100 (2768/2768)
50	1	100 (836/836)	100 (789/789)	100 (790/790)	100 (905/905)	100 (847/847)	100 (806/806)
	2	100 (889/889)	100 (826/826)	100 (812/812)	100 (922/922)	100 (732/732)	100 (784/784)
	3	100 (880/880)	100 (855/855)	100 (893/893)	100 (961/961)	100 (792/792)	100 (882/882)
	Total	100 (2605/2605)	100 (2470/2470)	100 (2495/2495)	100 (2788/2788)	100 (2371/2371)	100 (2472/2472)
100	1	100 (906/906)	100 (812/812)	100 (961/961)	100 (759/759)	100 (735/735)	100 (956/956)
	2	100 (990/990)	100 (716/716)	100 (880/880)	100 (891/891)	100 (842/842)	100 (872/872)
	3	100 (965/965)	100 (706/706)	100 (799/799)	100 (876/876)	100 (797/797)	100 (880/880)
	Total	100 (2861/2861)	100 (2234/2234)	100 (2640/2640)	100 (2526/2526)	100 (2374/2374)	100 (2708/2708)
Contro	1	2.36 (18/762)	3.95 (34/860)	4.50 (38/844)	5.00 (39/780)	5.88 (58/986)	7.11 (54/760)
	2	3.25 (26/800)	4.53 (46/1016)	4.83 (34/704)	5.85 (42/718)	6.84 (54/790)	7.69 (74/962)
	3	0.21 (2/948)	0.84 (8/952)	2.27 (20/880)	2.63 (21/798)	2.91 (25/860)	3.02 (26/862)
	Total	1.83 (46/2510)	3.11 (88/2828)	3.79 (92/2428)	4.44 (102/2296)	5.20 (137/2636)	5.96 (154/2584)

جدول شماره ۱۰: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۴/۷۷	۳	۱۰
			۵/۰۰	۳	۲۰
		۶/۹۶	۶/۹۶	۳	۳۰
	۹/۴۱	۹/۴۱		۳	۴۰
۱۱/۰۳	۱۱/۰۳			۳	۵۰
۱۲/۴۳				۳	۶۰
۰/۴۹	۰/۳۴	۰/۰۶	۰/۱۱		P- value

جدول شماره ۱۱: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۷/۹۷	۳	۱۰
	۹/۰۵	۹/۰۵	۳	۲۰
	۹/۸۴	۹/۸۴	۳	۳۰
	۱۰/۲۷	۱۰/۲۷	۳	۴۰
۱۱/۵۷	۱۱/۵۷		۳	۵۰
۱۳/۳۷			۳	۶۰
۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۱۳		P- value

جدول شماره ۱۲: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۱۰/۷۹	۳	۱۰
	۱۱/۰۷	۱۱/۰۷	۳	۲۰
	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۳	۳۰
	۱۱/۷۵	۱۱/۷۵	۳	۴۰
۱۲/۸۴	۱۲/۸۴		۳	۵۰
۱۳/۸۲			۳	۶۰
۰/۵۹	۰/۰۹	۰/۶۰		P- value

جدول شماره ۱۳: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۱۱/۲۱	۳	۱۰
۱۲/۴۳	۱۲/۴۳	۳	۲۰
۱۲/۹۹	۱۲/۹۹	۳	۳۰
۱۳/۴۲	۱۳/۴۲	۳	۴۰
۱۴/۵۵	۱۴/۵۵	۳	۵۰
۱۵/۳۹		۳	۶۰
۰/۰۹	۰/۰۵		P- value

جدول شماره ۱۴: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۱			
۱۲/۱۰		۳	۱۰
۱۳/۵۱		۳	۲۰
۱۳/۸۳		۳	۳۰
۱۴/۳۹		۳	۴۰
۱۵/۱۴		۳	۵۰
۱۵/۷۴		۳	۶۰
۰/۰۶			P- value

جدول شماره ۱۵: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال تخم گیاه کدو با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۱			
۱۳/۰۰		۳	۱۰
۱۴/۳۹		۳	۲۰
۱۴/۷۱		۳	۳۰
۱۶/۱۲		۳	۴۰
۱۶/۳۲		۳	۵۰
۱۹/۱۹		۳	۶۰
۰/۱۰			P- value

جدول شماره ۱۶: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۷/۳۷	۳	۱۰
	۷/۵۵	۷/۵۵	۳	۲۰
۸/۷۴	۸/۷۴	۸/۷۴	۳	۳۰
۱۰/۷۳	۱۰/۷۳		۳	۴۰
۱۱/۲۸			۳	۵۰
۱۱/۴۵			۳	۶۰
۰/۱۴	۰/۰۶	۰/۷۴		P- value

جدول شماره ۱۷: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۸/۶۶	۳	۱۰
۱۰/۸۵	۱۰/۸۵	۳	۲۰
۱۱/۰۴	۱۱/۰۴	۳	۳۰
۱۱/۹۵		۳	۴۰
۱۲/۵۳		۳	۵۰
۱۲/۵۷		۳	۶۰
۰/۴۳	۰/۱۵		P- value

جدول شماره ۱۸: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۹/۰۶	۳	۱۰
۱۱/۰۶	۱۱/۰۶	۳	۲۰
۱۱/۶۸	۱۱/۶۸	۳	۳۰
۱۳/۶۱		۳	۴۰
۱۳/۴۵		۳	۵۰
۱۳/۴۸		۳	۶۰
۰/۰۹	۰/۰۸		P- value

جدول شماره ۱۹: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

مدت زمان (دقیقه)	تعداد تست	گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)	
		۱	۲
۱۰	۳	۱۷/۶۸	
۲۰	۳	۱۸/۲۵	
۳۰	۳	۱۹/۱۶	
۴۰	۳	۱۹/۲۲	
۵۰	۳	۱۹/۳۶	
۶۰	۳	۲۰/۰۸	
P- value		۰/۲۰	

جدول شماره ۲۰: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

مدت زمان (دقیقه)	تعداد تست	گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)	
		۱	۲
۱۰	۳	۱۸/۱۳	
۲۰	۳	۲۰/۸۰	
۳۰	۳	۲۵/۴۵	
۴۰	۳	۲۶/۸۵	
۵۰	۳	۲۶/۸۸	
۶۰	۳	۲۸/۷۰	
P- value		۰/۲۲	۰/۱۰

جدول شماره ۲۱: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه تنباکو با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

مدت زمان (دقیقه)	تعداد تست	گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)	
		۱	۲
۱۰	۳	۹۱/۲۷	
۲۰	۳	۱۰۰/۰۰	
۳۰	۳	۱۰۰/۰۰	
۴۰	۳	۱۰۰/۰۰	
۵۰	۳	۱۰۰/۰۰	
۶۰	۳	۱۰۰/۰۰	
P- value		۱/۰۰	۱/۰۰

جدول شماره ۲۲: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۲/۸۱	۳	۱۰
		۵/۱۷	۳	۲۰
	۱۰/۵۷		۳	۳۰
۱۳/۱۹	۱۳/۱۹		۳	۴۰
۱۴/۴۱			۳	۵۰
۱۵/۲۱			۳	۶۰
۰/۳۰	۰/۱۱	۰/۱۷		P- value

جدول شماره ۲۳: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۹/۰۴	۳	۱۰
		۹/۶۴	۳	۲۰
	۱۳/۳۳	۱۳/۳۳	۳	۳۰
۱۶/۴۷	۱۶/۴۷		۳	۴۰
۲۱/۰۷			۳	۵۰
۲۱/۵۵			۳	۶۰
۰/۰۸	۰/۴۴	۰/۱۶		P- value

جدول شماره ۲۴: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۱۰/۵۴	۳	۱۰
		۱۲/۵۱	۱۲/۵۱	۳	۲۰
	۱۷/۵۶	۱۷/۵۶		۳	۳۰
	۱۹/۰۳			۳	۴۰
	۲۳/۱۳			۳	۵۰
۳۱/۸۱				۳	۶۰
۱/۰۰	۰/۱۰	۰/۱۶	۰/۸۹		P- value

جدول شماره ۲۵: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۱۲/۳۱	۳	۱۰
		۲۰/۷۶		۳	۲۰
	۲۱/۳۸	۲۱/۳۸		۳	۳۰
	۲۳/۷۱	۲۳/۷۱		۳	۴۰
	۲۹/۱۷			۳	۵۰
۷۲/۰۷				۳	۶۰
۱/۰۰	۰/۰۶	۰/۸۲	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۲۶: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۲۰/۱۲	۳	۱۰
		۴۳/۵۵		۳	۲۰
	۷۰/۹۶			۳	۳۰
	۷۵/۶۱			۳	۴۰
۹۳/۱۴				۳	۵۰
۹۹/۲۵				۳	۶۰
۰/۶۸	۰/۸۶	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۲۷: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه چای کوهی با غلظت ۱۰۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P<۰/۰۵$)	تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۱		
۹۸/۱۳	۳	۱۰
۱۰۰/۰۰	۳	۲۰
۱۰۰/۰۰	۳	۳۰
۱۰۰/۰۰	۳	۴۰
۱۰۰/۰۰	۳	۵۰
۱۰۰/۰۰	۳	۶۰
۰/۱۲		P- value

جدول شماره ۲۸: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)					تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۵	۴	۳	۲	۱		
				۵/۲۹	۳	۱۰
			۷/۸۴		۳	۲۰
		۹/۳۸	۹/۳۸		۳	۳۰
	۱۰/۸۹	۱۰/۸۹			۳	۴۰
	۱۲/۲۲				۳	۵۰
۲۱/۶۸					۳	۶۰
۱/۰۰	۰/۴۰	۰/۲۸	۰/۲۷	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۲۹: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۶/۳۷	۳	۱۰
	۹/۹۰		۳	۲۰
	۱۰/۶۳		۳	۳۰
	۱۲/۲۰		۳	۴۰
	۱۳/۰۴		۳	۵۰
۲۴/۷۱			۳	۶۰
۱/۰۰	۰/۰۵	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۰: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۹/۹۵	۳	۱۰
		۱۱/۱۳	۳	۲۰
		۱۳/۰۳	۳	۳۰
		۱۴/۳۸	۳	۴۰
	۲۴/۷۱		۳	۵۰
۳۶/۴۱			۳	۶۰
۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۲۱		P- value

جدول شماره ۳۱: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)					تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۵	۴	۳	۲	۱		
				۲۰/۹۴	۳	۱۰
			۴۶/۸۷		۳	۲۰
		۵۲/۵۰			۳	۳۰
	۸۲/۵۳				۳	۴۰
۱۰۰/۰۰					۳	۵۰
۱۰۰/۰۰					۳	۶۰
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۲: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه مورد با غلظت ۵۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۶۶/۵۵	۳	۱۰
۱۰۰/۰۰		۳	۲۰
۱۰۰/۰۰		۳	۳۰
۱۰۰/۰۰		۳	۴۰
۱۰۰/۰۰		۳	۵۰
۱۰۰/۰۰		۳	۶۰
۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۳: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۵/۶۳	۳	۱۰
		۸/۵۱	۳	۲۰
	۲۲/۸۳		۳	۳۰
	۲۵/۹۷		۳	۴۰
۴۷/۷۰			۳	۵۰
۵۰/۱۰			۳	۶۰
۰/۹۹	۰/۹۶	۰/۹۷		P- value

جدول شماره ۳۴: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۶/۶۴	۳	۱۰
		۲۱/۳۹		۳	۲۰
	۴۹/۰۰			۳	۳۰
	۵۲/۱۷			۳	۴۰
۹۶/۲۹				۳	۵۰
۹۷/۹۱				۳	۶۰
۰/۹۸	۰/۸۲	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۵: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کاکوتی با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۶۹/۷۹	۳	۱۰
۱۰۰/۰۰		۳	۲۰
۱۰۰/۰۰		۳	۳۰
۱۰۰/۰۰		۳	۴۰
۱۰۰/۰۰		۳	۵۰
۱۰۰/۰۰		۳	ش
۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۶: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۴/۴۷	۳	۱۰
	۶/۴۴	۶/۴۴	۳	۲۰
	۸/۴۷	۸/۴۷	۳	۳۰
	۹/۷۲		۳	۴۰
۱۴/۱۹			۳	۵۰
۱۷/۹۵			۳	۶۰
۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۰۵		P- value

جدول شماره ۳۷: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)					تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۵	۴	۳	۲	۱		
				۶۴/۰۰	۳	۱۰
			۸۵/۱۵		۳	۲۰
		۹۱/۰۱			۳	۳۰
	۹۵/۲۵	۹۵/۲۵			۳	۴۰
۹۶/۶۷	۹۶/۶۷				۳	۵۰
۱۰۰/۰۰					۳	۶۰
۰/۱۹	۰/۸۸	۰/۰۶	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۳۸: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه اسطوخودوس با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری (P<۰/۰۵)	تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۱		
۹۹/۳۱	۳	۱۰
۱۰۰/۰۰	۳	۲۰
۱۰۰/۰۰	۳	۳۰
۱۰۰/۰۰	۳	۴۰
۱۰۰/۰۰	۳	۵۰
۱۰۰/۰۰	۳	۶۰
۰/۵۳		P- value

جدول شماره ۳۹: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۱۳/۰۹	۳	۱۰
			۱۴/۶۱	۳	۲۰
			۱۷/۷۸	۳	۳۰
		۸۵/۰۰		۳	۴۰
	۹۲/۰۱			۳	۵۰
۹۹/۳۳				۳	۶۰
۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۲۲		P- value

جدول شماره ۴۰: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)				تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۴	۳	۲	۱		
			۱۶/۰۶	۳	۱۰
			۱۶/۱۰	۳	۲۰
		۳۴/۵۴		۳	۳۰
	۹۶/۴۳			۳	۴۰
۹۹/۶۸				۳	۵۰
۱۰۰/۰۰				۳	۶۰
۰/۹۹	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۴۱: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۱۰ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)			تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۳	۲	۱		
		۴۷/۰۹	۳	۱۰
	۹۲/۲۷		۳	۲۰
۹۷/۳۳			۳	۳۰
۱۰۰/۰۰			۳	۴۰
۱۰۰/۰۰			۳	۵۰
۱۰۰/۰۰			۳	۶۰
۰/۰۷	۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

جدول شماره ۴۲: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه دارچین با غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P<۰/۰۵$)	تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۱		
۹۷/۱۱	۳	۱۰
۹۹/۱۹	۳	۲۰
۱۰۰/۰۰	۳	۳۰
۱۰۰/۰۰	۳	۴۰
۱۰۰/۰۰	۳	۵۰
۱۰۰/۰۰	۳	۶۰
۰/۰۶		P- value

جدول شماره ۴۳: اثر مقایسه ای پروتواسکولیسیدال گیاه کافور با غلظت ۳ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه مختلف با استفاده از تست Tukey (درصد)

گروه های همگنی در سطح معنی داری ($P < 0.05$)		تعداد تست	مدت زمان (دقیقه)
۲	۱		
	۹۷/۵۳	۳	۱۰
۱۰۰/۰۰		۳	۲۰
۱۰۰/۰۰		۳	۳۰
۱۰۰/۰۰		۳	۴۰
۱۰۰/۰۰		۳	۵۰
۱۰۰/۰۰		۳	۶۰
۱/۰۰	۱/۰۰		P- value

نتایج اثرات ایمونومدولاتوری گیاهان دارویی بر مارکرهای بلوغ دندریتیک

از بین ۸ گیاه مورد تحقیق، گیاهانی که تقریباً دارای اثر پروتواسکولیسیدال مناسبی بودند برای بررسی ایمونومدولاتوری و اثر بر فاکتورهای بلوغ دندریتیک انتخاب شدند. این گیاهان شامل: تنباکو، چای کوهی، مورد، کاکوتی، اسطوخودوس، دارچین و کافور می باشند.

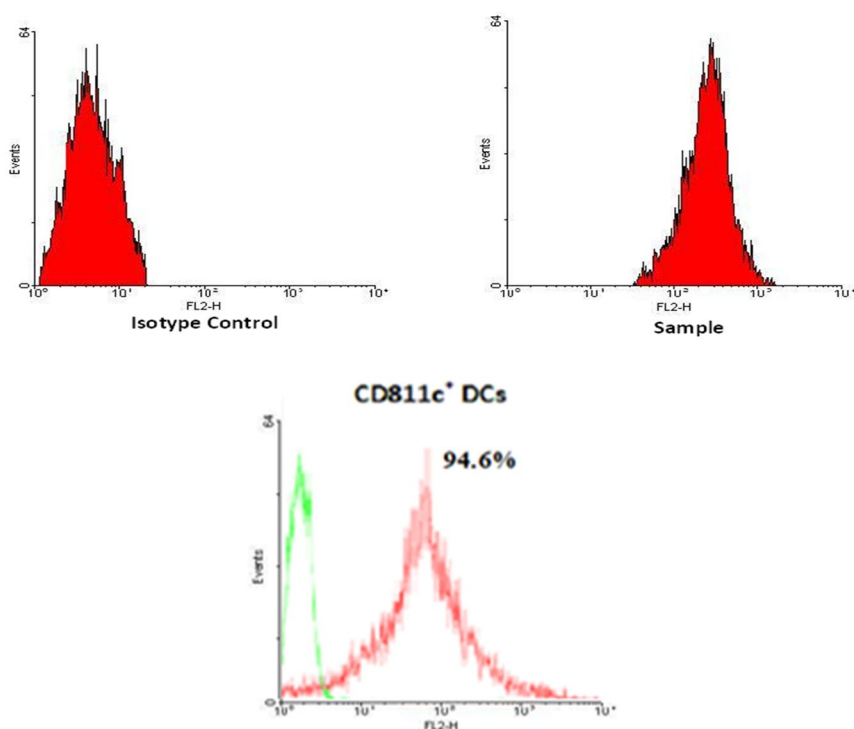
نتایج حاصل از تخلیص سلول $CD811c^+$ DCs

نتایج فلوسیتومتری جداسازی سلول $CD811c^+$ DCs با روش بید مغناطیسی بعد از جداسازی،

سلولها با آنتی بادیهای فلورسنت شامل anti- $CD11c$ (PE-conjugated) و isotype-

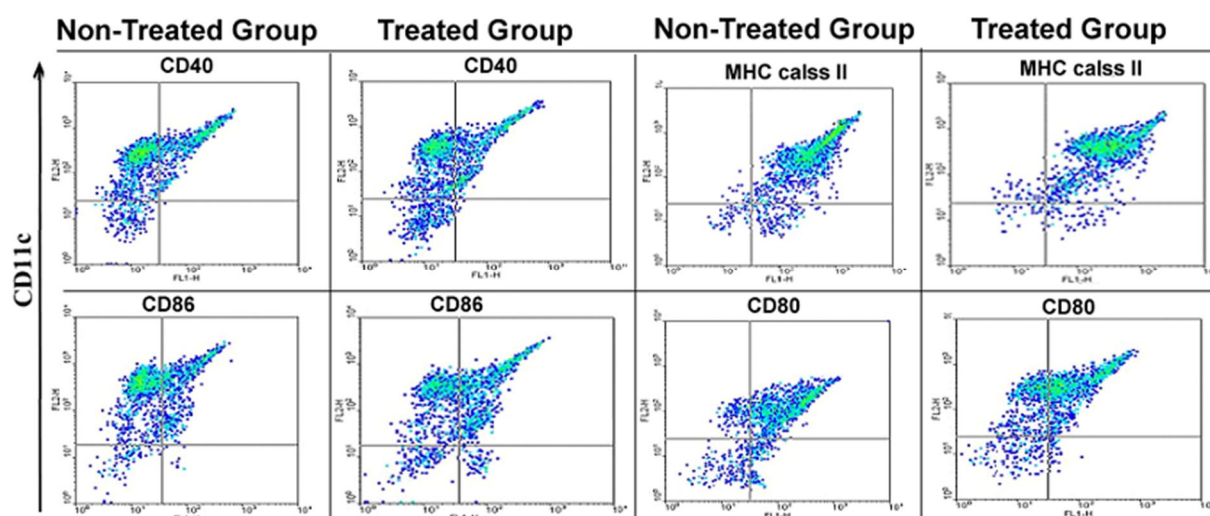
matched controls رنگ آمیزی و با دستگاه فلوسیتومتری قرائت گردید. نتایج نشان دادند که

سلول دندریتیک با خلوص 94.6 ± 1.2 درصد جداسازی شدند (تصویر ۷)



تصویر (۷): فلوسیتومتری درصد خلوص سلول $CD811c^+$ DCs

سلولهای دندریتیک بعد از جداسازی با بید مغناطیسی با آنتی بادیهای منوکلونال فلورسنت و ایزوتیپ کنترل رنگ آمیزی شدند. نمونه ای از نمودار فلوسیتومتری سلولهای دندریتیک با مارکرهای مثبت از لحاظ $CD11c^{+}$ با درجه خلوص $94.6 \pm 1.2\%$ نشان داده شده است. نمودار رنگ قرمز: نمونه سلولهای دندریتیک جدا شده و نمودار رنگ سبز: ایزوتیپ کنترل (تصویر ۸). نتایج حاصل میانگین حداقل سه بار آزمایش جداگانه به صورت تکرار دوتایی بوده است.

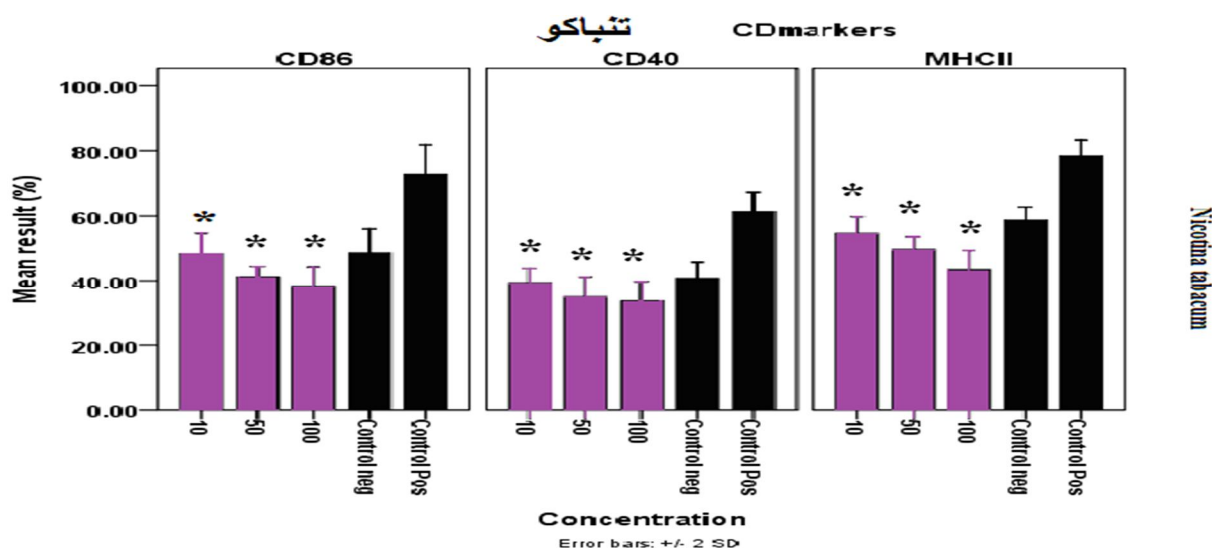


تصویر (۸): نمونه ای از نتایج فلوسیتومتری درصد بروز مارکرهای بلوغ در سطح سلولهای دندریتیک

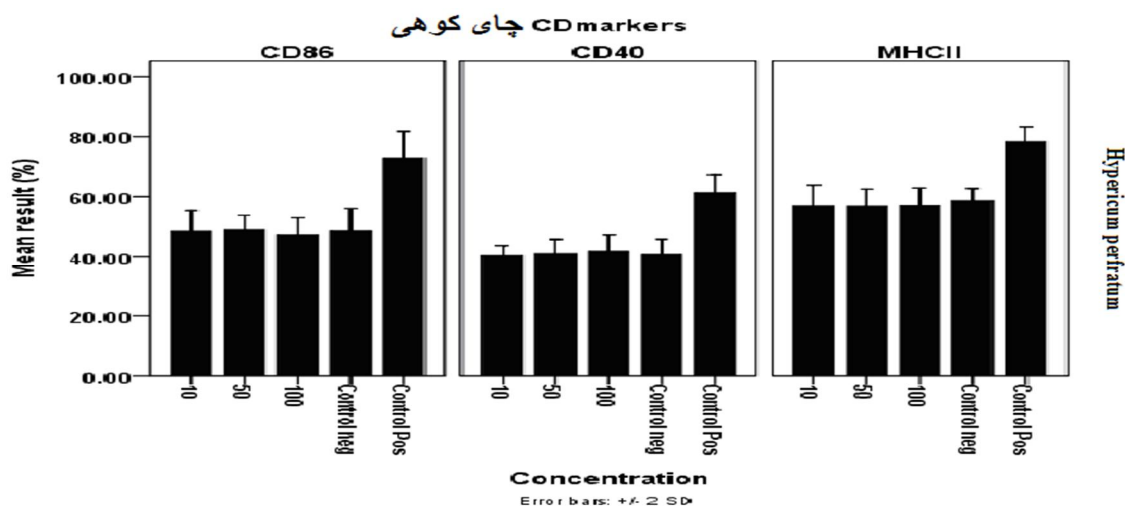
بعد از کشت سلولی و مواجهه با عصاره یا اسانس گیاهان

نتایج فلوسیتومتری مارکرهای بلوغ سلول $CD811c^{+}$ DCs بعد از کشت با عصاره یا اسانس گیاهان

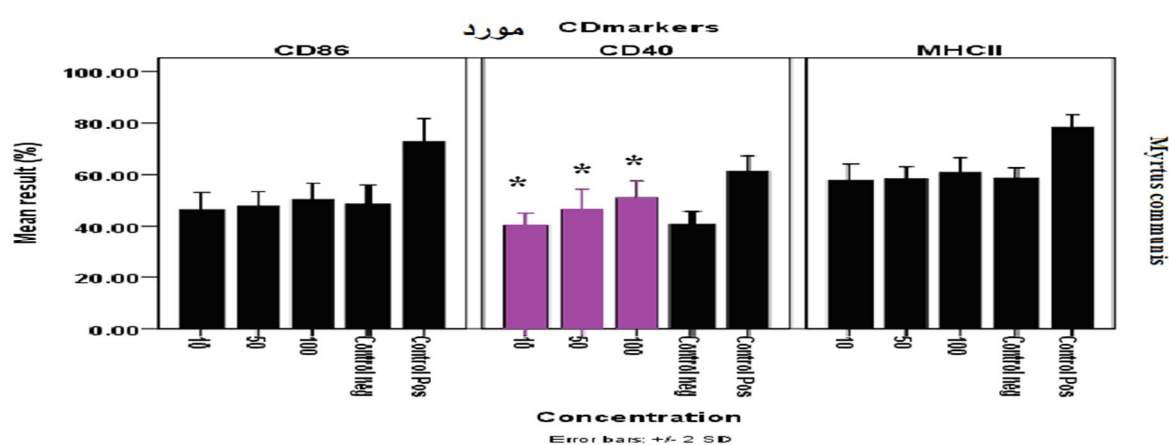
عصاره گیاه تنباکو در غلظت های $10 \mu g/ml$ ، 50 و $100 \mu g/ml$ میزان مارکرهای $CD86$ ، $CD40$ و $MHCII$ را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0.05$).



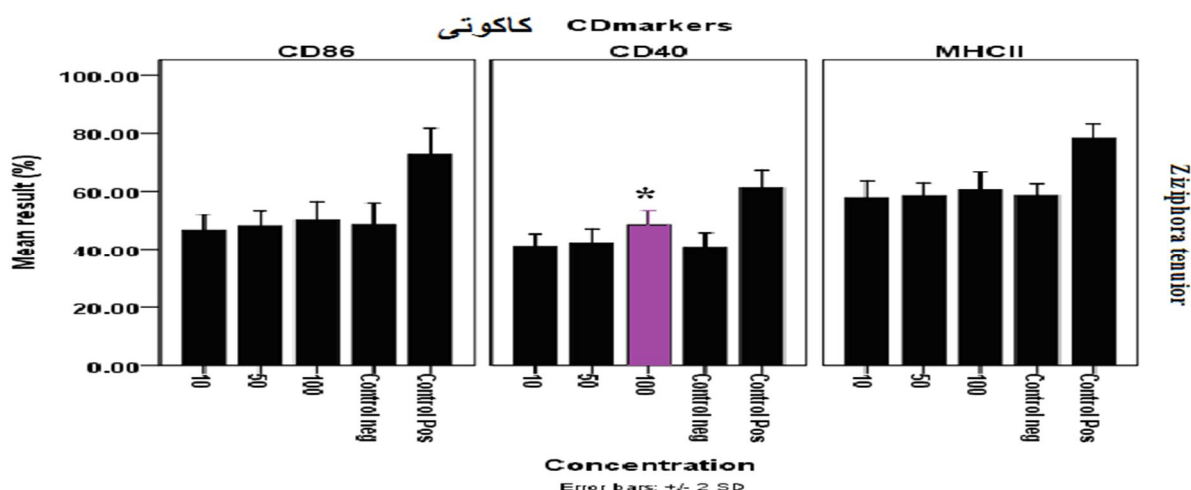
عصاره گیاه چای کوهی در غلظت های $10 \mu g/ml$ و $50 \mu g/ml$ روی مقدار مارکرهای $CD86$ و $CD40$ اثر چندانی نداشت ولی در این غلظت ها میزان مارکر $MHCII$ را کاهش داد. این گیاه در غلظت $100 \mu g/ml$ ، مارکرهای $CD86$ و $MHCII$ را کاهش و سطح مارکر $CD40$ را افزایش داد. البته هیچکدام از این اثرات دارای ارزش معنی داری نبودند.



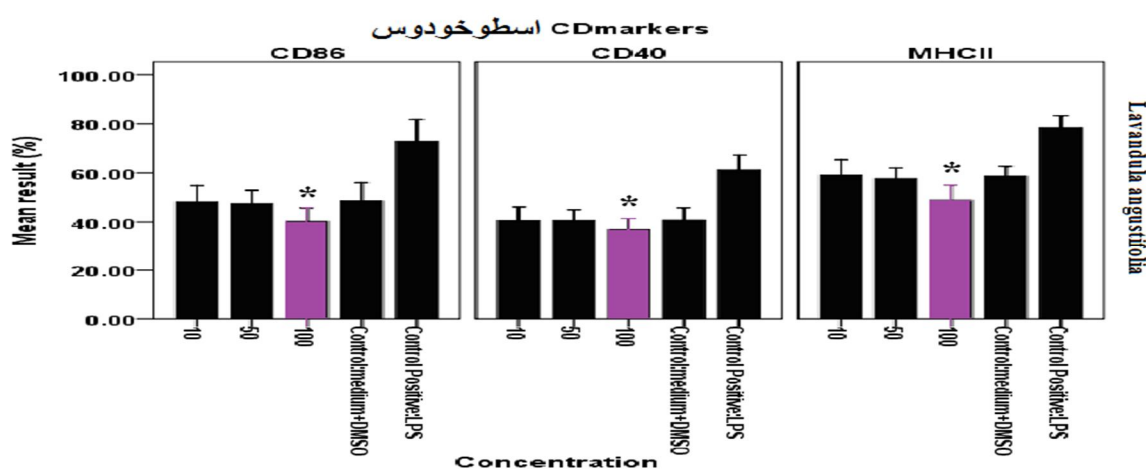
عصاره گیاه مورد در غلظت های ۱۰ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ باعث کاهش مارکر CD86 شده ولی در این غلظت ها اثر چندانی روی مارکر MHCII نداشت. این گیاه در غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ میزان ارائه هر دو مارکر فوق را روی سلول های دندریتیک افزایش داد. البته هیچکدام از نتایج ذکر شده، معنی دار نبودند. گیاه مورد در غلظت ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ اثر کاهشی روی مارکر CD40 داشته و در غلظت های ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ باعث افزایش این مارکر شد که این افزایش در همه غلظت ها معنی دار بود ($P < 0.05$).



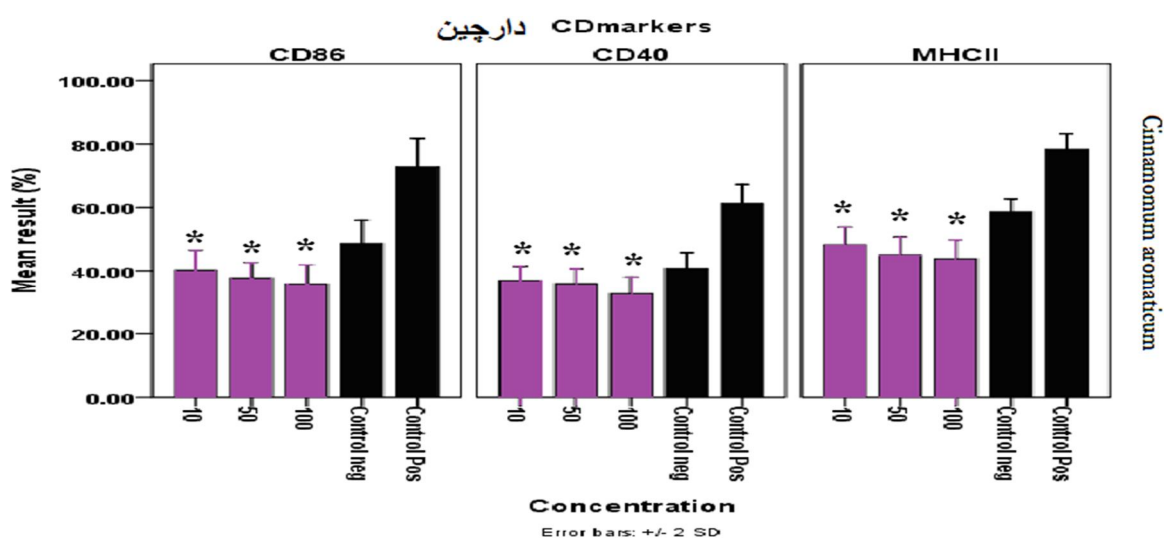
عصاره گیاه کاکوتی در غلظت های ۱۰ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ میزان مارکر CD86 و MHCII را کاهش و میزان CD40 را افزایش داد. این گیاه در غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ باعث افزایش ارائه مارکرهای CD40، CD86 و MHCII شده که در مورد مارکر CD40 این افزایش معنی دار بود ($P = 0.002$).



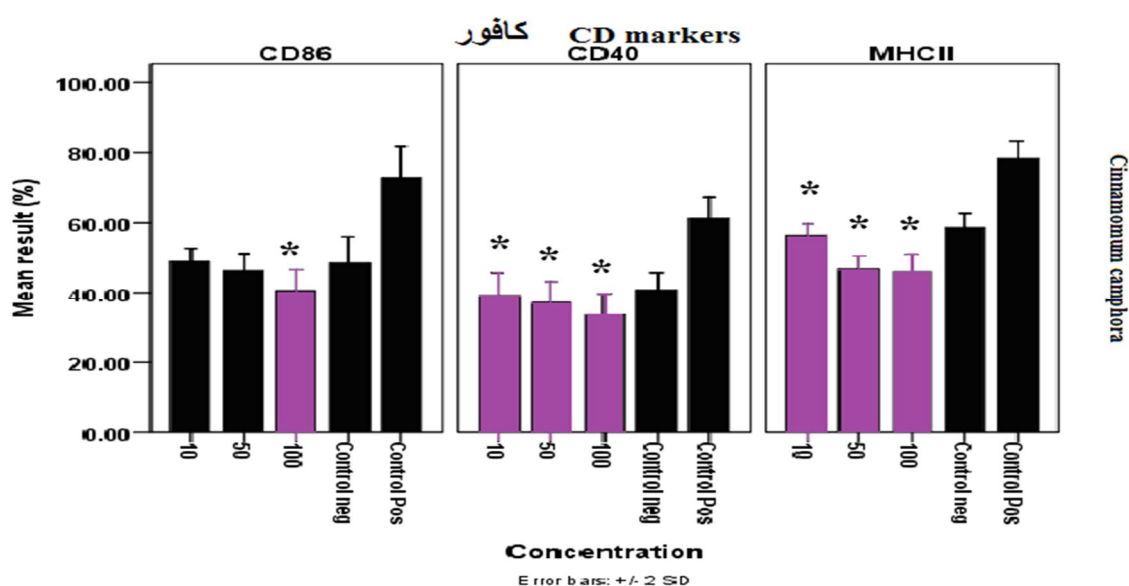
اسانس گیاه اسطوخودوس در غلظت های ۱۰۰ و ۵۰ و ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ باعث کاهش میزان مارکرهای CD86 و CD40 شد که این کاهش در غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ برای مارکرهای فوق معنی دار بود ($P<0/05$). این گیاه در غلظت ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ باعث افزایش مارکر MHCII شده و در غلظت های ۱۰۰ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ این مارکر را کاهش داد که البته در غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ برای این مارکر دارای اثر معنی داری بود ($P<0/05$).



از اسانس گیاه دارچین در این مطالعه استفاده شد و غلظت های ۱۰۰، ۵۰، ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ دارای اثر قابل توجهی در کاهش مارکرهای CD86، CD40 و MHCII بوده و با توجه به بررسی های آماری این اثر معنی دار بود ($P<0/05$).



عصاره گیاه کافور در غلظت های ۱۰ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ میزان مارکرهای CD40 و MHCII را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0.05$). این گیاه در غلظت ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ سطح مارکر CD86 را افزایش و در غلظت ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ سطح آن را کاهش داد که البته این اثرات معنی دار و قابل ارزش نبودند. غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در این گیاه، سطح ارائه همه مارکر ها را به مقدار قابل توجهی کاهش داد و این نتایج دارای اثر معنی داری بودند ($P < 0.05$).



* بیانگر معنی دار بودن اثر گیاه روی مارکر

فصل ششم

بحث

در این مطالعه تاثیر عصاره گیاهان کدوتنبل، تنباکو، چای کوهی، مورد، کاکوتی، کافور و اسانس گیاهان اسطوخودوس و دارچین بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتیک در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه و غلظت های (۳، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و محیط *In vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین اثر ایمونومدولاتوری گیاهان موثر بر پروتواسکولکس ها بر روی سلول های دندریتیک مورد بررسی قرار گرفت.

عصاره تخم گیاه کدو در تمامی غلظت های مورد استفاده و مدت زمان های مواجهه، تاثیر قابل ملاحظه ای روی پروتواسکولکس ها نداشت.

نائینی و همکاران در بررسی اثر ضد کاندیدایی عصاره چند گیاه از جمله کدو روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس مشاهده کردند که این گیاه فاقد هر گونه اثر کشندگی قابل توجهی روی قارچ کاندیدا بود (۶۹) در مطالعه ما نیز عصاره گیاه مورد نظر هیچگونه اثر قابل توجهی روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک نداشت.

در چند مطالعه مروری توسط *Lans, Guarrera* و *Mali* روی چند گیاه از جمله کدو مشاهده شد که این گیاه روی سستوها، ترماتودها و نماتودها اثر خوبی دارد (۷۱، ۷۲، ۷۳) درحالیکه بر خلاف تحقیقات ذکر شده در مطالعه حاضر این گیاه اثر چندانی روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک نداشت که شاید این مسئله مربوط به نوع عصاره و نوع انگل باشد.

Hammer و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره ۵۲ گیاه از جمله کدو را بررسی نمودند. آنها از غلظت های ۰/۰۳ تا ۲ درصد اسانس استفاده نموده و مشاهده کردند که این گیاه در بالاترین غلظت نیز اثر چندانی در کشتن میکروارگانیسم ها نداشت (۷۰) در مطالعه ما نیز عصاره گیاه مورد نظر حتی در غلظت های بالا هم اثری روی مرگ پروتواسکولکس ها نداشت.

عصاره گیاه تنباکو در همه غلظت های مورد استفاده بجز ۱۰۰ mg/ml و در تمامی مدت زمان های مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت. در غلظت ۱۰۰ mg/ml در ۱۰ دقیقه، مواجهه باعث مرگ ۹۱/۱۹٪ پروتواسکولکس ها و در مدت زمان های مواجهه دیگر (۲۰ تا ۶۰ دقیقه) باعث از بین رفتن ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها شد همچنین در بررسی اثر ایمنومدولاتوری عصاره گیاه تنباکو بر مارکرهای بلوغ سلول های دندریتیک (MHCII, CD86, CD40) مشخص شد که عصاره این گیاه در غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ μg/ml میزان این مارکرها را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0/05$).

Zaman و همکاران اثر عصاره چند گیاه دارویی از جمله برگ های گیاه تنباکو را روی لارو کنه *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* بررسی نمودند. مخلوط عصاره گیاهان مورد نظر به نسبت های ۰/۷۸۱۲۵، ۱/۵۶۲۵، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ رقیق شد و مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره ها، میزان مرگ لاروها بالا رفت به گونه ای که در غلظت ۳/۱۲۵ mg/ml حدود ۵۰٪ و در غلظت های ۶/۲۵ mg/ml تا ۵۰ به میزان ۱۰۰٪ لاروها از بین رفتند (۷۴). در تحقیق حاضر نیز این گیاه در هیچ یک از غلظتهای مورد استفاده اثر قابل توجهی روی انگل نداشت و فقط در بالاترین غلظت باعث از بین رفتن پروتواسکولکس ها به میزان ۱۰۰٪ شد.

اثر عصاره برگ گیاه تنباکو روی انگل همونکوس کونتورتوس توسط Iqbal و همکاران مطالعه شد. نتایج نشان داد که عصاره گیاه مذکور با غلظت ۲۵ mg/ml با افزایش زمان مواجهه، درصد بیشتری از

انگل ها را از بین می برد به گونه ای که با گذشت مدت زمانهای ۱ و ۶ ساعت مواجهه، به ترتیب تقریباً ۶۰ و ۱۰۰ درصد کرم ها از بین رفتند (۷۵). در این مطالعه نیز در غلظت های پایین این گیاه اثری روی کشندگی انگل نداشت.

بهمنی و همکاران که اثر عصاره متانولی گیاه تنباکو را روی گونه ای از زالو (لیمناتیس نیلوتیکا) بررسی کردند مشاهده نمودند که عصاره گیاه مورد نظر دارای اثر مناسبی روی انگل بوده و با دوز 600 mg/ml در مدت زمان ۱۷ دقیقه باعث مرگ زالوها شد (۷۶) این تحقیق با مطالعه حاضر همسو نبود، بطوریکه ما مشاهده کردیم که عصاره مورد نظر در همه غلظت ها بجز 100 mg/ml و در همه زمانهای مورد نظر اثری روی مرگ انگل نداشت و فقط در غلظت 100 mg/ml در مدت زمان ۱۰ دقیقه ۹۱/۱۹٪ و در زمانهای ۲۰ تا ۶۰ دقیقه به میزان ۱۰۰٪ باعث از بین رفتن پروتواسکولکس ها شد. در یک مطالعه دیگر شاددل و همکاران (سال ۱۳۸۷) اثر گیاهانی از جمله توتون را روی کنترل کنه واروای زنبورعسل، بررسی نموده و دیدند که غلظت ۲۰٪ عصاره، به طور متوسط ۸۳/۶٪ از آلودگی را کاهش داد. محققین احتمال دادند که توتون به دلیل داشتن مواد موثر نیکوتین، نیکوتین و نیکوتیل لین باعث مرگ کنه ها شده باشد (۷۷). در تحقیق ما نیز احتمالاً دلیل مرگ پروتواسکولکس ها در غلظت 100 mg/ml افزایش درصد ماده نیکوتین و مواد موثر دیگر در عصاره باشد.

Mali در یک مطالعه مروری در بررسی اثر گیاهان داروئی از جمله تنباکو روی انگل همونکوس کونتورتوس گزارش کرد که اثر گیاه مذکور در از بین بردن انگل، به میزان مواجهه انگل با عصاره گیاه وابسته می باشد (۷۳). در تحقیق ما نیز مشاهده شد که این گیاه در غلظت 100 mg/ml در مدت زمان ۱۰ دقیقه ۹۱/۱۹٪ ولی در مدت زمان ۲۰ دقیقه ۱۰۰٪ از پروتواسکولکس ها را از بین می برد.

Lommatzsch و همکاران در سال ۲۰۰۹، که اثر دود سیگار را بر روی سلول های دندریتیک مجاری هوایی بررسی نمودند مشاهده کردند که تعداد سلولهای ماکروفاژ، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و دندریتیک پلاسماسیتوئیدی در مواجهه با سیگار تغییری نداشت ولی افزایش شدیدی در تعداد سلولهای دندریتیک میلوئیدی در مایع برونکوآلوئولار به همراه کاهش این سلول ها در خون وجود داشت. همچنین در مواجهه با سیگار بیان آنتی ژن توسط مولکول های سطحی سلول های دندریتیک خون افزایش یافت ولی این رسپتورها در دندریتیک های ریوی با کاهش بیان مواجه بودند. در این تحقیق بیان کموکاین رسپتوره (CCR5) روی سلول های دندریتیک میلوئیدی در مایع داخل برونش ها به طور قابل توجهی در مواجهه با سیگار کاهش یافت. طبق این مطالعه محققان دریافتند که استنشاق نیکوتین موجود در دود سیگار به صورت سریع و انتخابی سلولهای دندریتیک میلوئیدی مسیر هوایی انسان را درگیر کرده و منجر به واکنش های اکتسابی سیستم ایمنی می شود (۱۳۵). با توجه به اینکه گیاه تنباکو از مواد استفاده شده در سیگار می باشد، احتمالاً اثر روی سلول های دندریتیک و کاهش بیان مارکرهای بلوغ در مطالعه ما نیز به دلیل وجود ماده نیکوتین در گیاه مذکور باشد.

در مطالعه ای دیگر که توسط Yanagita و همکاران انجام شد، میزان تنظیم بلوغ سلول های دندریتیک مشتق شده از منوسیت های خون محیطی در حضور نیکوتین و لیپوپلی ساکارید بررسی گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که نیکوتین باعث افزایش بیان مارکرهای CD40، CD80 و CD86 و کاهش بیان مولکول HLA-DR در روی سلول های دندریتیک شد. در این مطالعه میزان IL-10، IL-12، TNF- α و اینترفرون گاما و همچنین تکثیر سلول های T کاهش یافته ولی میزان IL-5 افزایش داشت. آنها دریافتند که در حضور ماده نیکوتین پاسخ ایمنی به سمت Th₂ پیش می رود (۱۳۶). در این تحقیق بیان مارکرهای بلوغ افزایش داشته که ممکن است به دلیل نوع سلول های

دندریتیک و همچنین مواجه شدن این سلول ها با لیپوپلی ساکارید در مطالعه فوق باشد و سلول های دندریتیک طحال در مطالعه ما پاسخ متفاوتی نسبت به عصاره داشته باشد.

Khanna و همکاران در سال ۲۰۱۴ سمیت ژنی ذرات تنباکو را در گارگران کارخانه بررسی کردند. میزان CA (انحراف کروموزومی) در لنفوسیت های خون محیطی این افراد به طور معنی داری افزایش یافت. در این تحقیق مشاهده شد که آسیب به DNA با افزایش دوره مواجهه با تنباکو بیشتر می شود (۱۳۷). همانگونه که ذرات این گیاه روی ژنها اثر توکسیک داشته می توان گفت در مطالعه ما کاهش بیان مارکرهای بلوغ در سلول های دندریتیک نیز احتمالا می تواند به دلیل اثر سمی آن روی سلول های مذکور باشد که نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

Ghazavi و همکاران در سال ۲۰۱۳ طی مطالعه ای مشاهده کردند که میزان سایتوکاین های IL-10 و IL-17 و IFN- γ در سرم افراد مصرف کننده تریاک به طور معنی داری افزایش داشت. با توجه به تحقیق فوق، میزان مصرف طولانی و روزانه ماده مخدر با افزایش غلظت سایتوکاین های سرم $(IFN-\gamma)Th_1$ ، $(IL-10)Tr_1$ و $(IL-17)Th_{17}$ مرتبط می باشد. این مطالعه نشان می دهد که افزایش اینترلوکین ۱۰ باعث اثر ایمنومودولاتوری این ماده می گردد (۱۳۸). با توجه به اینکه ماده مخدر تریاک حاوی ترکیباتی مشابه گیاه تنباکو می باشد در مطالعه ما نیز دارای اثر ایمنومودولاتوری قابل توجهی بود.

عصاره گیاه چای کوهی در غلظت های ۳ تا ۲۵ mg/ml، در تمامی مدت زمان های مواجهه، تاثیر قابل توجهی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی با غلظت ۵۰ mg/ml بعد از ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه مواجهه، به ترتیب ۷۰/۹۰، ۷۵/۳۵، ۹۳/۲۳ و ۹۹/۳۲ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد و در غلظت ۱۰۰ mg/ml در ۱۰ دقیقه مواجهه، باعث مرگ ۹۸/۲۵ درصد از پروتواسکولکس ها شد و در بقیه مدت زمان های مواجهه، تاثیر آن ۱۰۰٪ بود همچنین در بررسی اثر عصاره گیاه چای کوهی بر

روی مارکرهای بلوغ سلول های دندریتیک (CD86 MHCII و CD40) مشاهده شد که این گیاه در غلظت های $10 \mu\text{g/ml}$ و 50 روی مقدار مارکرهای CD86 و CD40 اثر چندانی نداشت ولی در این غلظت ها میزان مارکر MHCII را کاهش داد. این گیاه در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ ، مارکرهای CD86 و MHCII را کاهش و سطح مارکر CD40 را افزایش داد. البته هیچکدام از این اثرات دارای ارزش معنی داری نبودند.

در مطالعه نائینی و همکاران (سال ۱۳۸۷) در بررسی اثر ضد کاندیدایی عصاره چای کوهی روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلیکنس مشاهده شد که گیاه مذکور فاقد هر گونه اثر ضد قارچی قابل توجهی بود (۶۹) در مطالعه حاضر نیز عصاره گیاه مورد نظر در غلظت های پایین (3 mg/ml تا 25) اثر قابل توجهی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی بر خلاف تحقیق فوق در غلظت های بالا، نتایج رضایت بخش بود چنانکه غلظت 100 mg/ml باعث مرگ همه پروتواسکولکس ها شد.

سرشتی و همکاران که تأثیر عصاره گیاه چای کوهی را روی انگل تریکوموناس واژینالیس بررسی کردند مشاهده نمودند که عصاره گیاه مورد نظر در غلظت های پائین ($10 \mu\text{g/ml}$ ، 50 ، 100 ، 200 و 500) اثر چندانی روی انگل نداشت ولی در غلظت $1000 \mu\text{g/ml}$ حدود 93% انگل ها را از بین برد (۷۸) که با تحقیق حاضر همخوان می باشد. در مطالعه ما نیز این گیاه در غلظت های پائین (3 mg/ml تا 25) اثر چندانی روی انگل نداشت ولی در غلظتهای بالاتر (50 mg/ml و 100) باعث مرگ درصد قابل توجهی از پروتواسکولکس ها شد.

Mozaffari و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بررسی اثر ضد التهابی و آنتی اکسیدانی عصاره گیاه چای کوهی روی سندرم روده تحریک پذیر در موش صحرایی مشاهده کردند که در حضور این گیاه $\text{TNF-}\alpha$ ، میلوپراکسیداز و اکسیداسیون لیپید در بافت کولون به میزان قابل توجهی کاهش یافت. این گیاه همچنین دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بود. علاوه بر آن، گیاه مذکور دارای اثر ضد التهابی بوده که

ممکن است از طریق مهار میلوپراکسیداز و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی اعمال شود. احتمالاً ترکیباتی از جمله هیپریسین، فلاونوئیدها، تانن ها و هیپرفورین باعث اثرات فوق در این گیاه باشند (۱۴۰). اثر ایمونومدولاتوری این گیاه روی سلول های دندریتیک نیز ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فوق باشد که به بررسی های بیشتری نیاز دارد.

در مطالعه دیگری Kang و همکاران اثر مهاری ماده هیپریسین جدا شده از گیاه چای کوهی را در تولید IL-12 در ماکروفاژها بررسی نمودند. محققین مشاهده کردند که این ماده به طور معنی داری تولید سایتوکین IL-12 را مهار نمود، این کاهش در غلظت های $1 \mu\text{g/ml}$ ، ۵ و ۱۰ و به صورت وابسته به دوز مشاهده شد. همچنین این ماده دارای اثر مهاری در تنظیم فعالیت پروموتور IL-12 بوده و احتمال داده می شود که دارای تنظیم منفی روی تولید IL-12 در سطح نسخه برداری داشته باشد. این محققین دلیل برخی فعالیت های بیولوژیکی از جمله اثر ضد روماتیسمی گیاه چای کوهی را به وجود ترکیب هیپریسین می دانند (۱۴۱). اثر بر مارکرهای بلوغ سلول های دندریتیک در مطالعه حاضر نیز ممکن است به دلیل وجود این ماده در گیاه چای کوهی باشد، البته در تحقیق ما نیز اثر ایمونومدولاتوری بر سلول های دندریتیک وابسته به دوز عصاره بود.

عصاره گیاه مورد با غلظت های 3 mg/ml ، ۵ و ۱۰ در تمامی مدت زمان های مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی در غلظت 25 mg/ml در دقایق ۳۰ و ۴۰ به ترتیب ۵۲/۲۷ و ۸۲/۴۶ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد و در دقایق ۵۰ و ۶۰ این اثر ۱۰۰٪ بود. با غلظت 50 mg/ml و ۱۰۰ در تمامی مدت زمان های مواجهه بجز ۱۰ دقیقه، تاثیر گیاه ۱۰۰٪ بود. در مدت زمان مواجهه ۱۰ دقیقه با غلظت 50 mg/ml این اثر ۶۶/۴۷٪ ارزیابی شد.

در مطالعه اثر ایمونومدولاتوری عصاره گیاه مورد مشاهده شد که این گیاه در غلظت های $\mu\text{g/ml}$ ۱۰ و ۵۰ باعث کاهش مارکر CD86 شده ولی در این غلظت ها اثر چندانی روی مارکر MHCII

نداشت در حالیکه این گیاه در غلظت $100 \mu\text{g/ml}$ میزان ارائه هر دو مارکر فوق را روی سلول های دندریتیک افزایش داد. البته هیچکدام از نتایج ذکر شده، معنی دار نبودند. گیاه مورد در غلظت $\mu\text{g/ml}$ ۱۰ اثر کاهشی روی مارکر CD40 داشته و در غلظت های $50 \mu\text{g/ml}$ و $100 \mu\text{g/ml}$ باعث افزایش این مارکر شد که این افزایش در همه غلظت ها معنی دار بود ($P < 0.05$).

براتی و همکاران اثر ضد لیشمانیایی چند گیاه دارویی از جمله عصاره مورد را با داروی تارتارامتیک مقایسه نمودند. آنها پروماستیگوتهای لیشمانیا ماژور را با غلظت های $31/25 \mu\text{g/ml}$ ، $62/5$ ، 125 ، 250 ، 500 و 5000 از عصاره و دارو مواجه نموده و مشاهده کردند که عصاره این گیاه در غلظت $31/25 \mu\text{g/ml}$ روی انگل بی تأثیر بوده ولی در غلظت های دیگر دارای اثری مشابه داروی مورد نظر بود و در بالاترین غلظت ($5000 \mu\text{g/ml}$) حتی بیشتر از دارو انگل را از بین برد. در این مطالعه مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره های مورد مطالعه، اثر مهاری آنها روی پروماستیگوت های انگل افزایش یافت، همچنین مشاهده شد که گیاه مورد نسبت به بقیه عصاره ها اثر قوی تری روی انگل داشت (۸۳) در مطالعه حاضر نیز در غلظت های بالای عصاره، اثر قوی تری مشاهده شد ولی در غلظت های پائین اثرش روی پروتواسکولکس ها بسیار ناچیز بود.

در سال ۱۳۸۵ اثر عصاره متانولی چند گیاه دارویی از جمله گیاه مورد روی تریکوموناس واژینالیس بررسی شد و مشاهده شد که عصاره گیاه مذکور در غلظت $0/1\%$ در ابتدای کشت و در غلظت $0/01\%$ یک ساعت بعد انگل را از بین می برد. محققین احتمال دادند که اثر کشندگی مناسب این گیاه به دلیل ترکیبات شیمیایی خاص موجود در آن باشد (۸۲). نتایج این تحقیق نمایانگر تأثیر غلظت عصاره در از بین بردن انگل می باشد که از این نظر با مطالعه حاضر همسو می باشد. در تحقیق ما این گیاه در غلظت های 3 ، 5 و 10 mg/ml تأثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی در غلظت mg/ml

۲۵ در دقایق ۳۰ و ۴۰ به ترتیب ۵۲/۲۷ و ۸۲/۴۶ درصد از پروتواسکولکس ها را از بین برد و در غلظت ۵۰ mg/ml و ۱۰۰ در تمامی مدت زمان های مواجهه بجز ۱۰ دقیقه، تاثیر گیاه ۱۰۰٪ بود.

شکبایی و همکاران که اثر ضد پلاسمیدی عصاره چند گیاه دارویی از جمله گیاه مورد را روی سوش های مقاوم کلبسیلا نومونیه بررسی نمودند، مشاهده نمودند که گیاهان بسته به غلظت عصاره و نوع میکروارگانیسم می توانند اثرات متفاوتی داشته باشند و همانطور که این تحقیق نشان داد عصاره گیاهان مورد آزمایش روی کلبسیلا در غلظت های بالا موثر بودند ولی روی پلاسمید اثری نداشتند (۸۴). در مطالعه ما نیز این عصاره در غلظت های بالا اثر مناسبی روی انگل داشت.

فعالیت ضد باکتریایی ۷۹ گیاه دارویی از جمله گیاه مورد، توسط شهیدی بجنورد در سال ۲۰۰۴ بررسی شد. میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری ها در مجاورت عصاره مذکور با غلظت های ۵ mg/ml، ۱۰ و ۲۰ به ترتیب ۹ mm، ۲۳ و ۲۶ گزارش گردید. در این تحقیق میزان غلظت عصاره ها در از بین بردن باکتری ها از اهمیت ویژه ای برخوردار بود (۸۵) که در مطالعه ما نیز افزایش غلظت عصاره باعث مرگ تعداد بیشتری از پروتواسکولکس ها شد.

شاکرمی و همکاران که اثر مهارکنندگی اسانس ۵ گونه گیاه از جمله مورد را بر رشد میسلومی چهارگونه قارچ بیماریزا بررسی کردند، مشاهده نمودند که اسانس گیاه مذکور با غلظت های سریالی باعث مهار رشد قارچهای *Rhizoctonia solani*، *Pythium ultimum*، *Fusarium oxysporum* و *Gaeumannomyces graminis* شد. بیشترین تاثیر اسانس در حداکثر غلظت آن حادث شد. در این تحقیق قارچ های مورد بررسی در برابر اسانس های مختلف گیاهی، حساسیت متفاوتی داشتند (۸۶) در مطالعه ما نیز میزان حساسیت انگل نسبت به غلظت های مختلف عصاره متنوع بود و اثر کشندگی در غلظت های بالا بیشتر شد. البته همانگونه که این گیاه در برابر گونه های

مختلف قارچی اثرات متفاوتی داشته ممکن است بی تاثیر بودن انگل نسبت به غلظت های پائین عصاره مورد نظر به دلیل نوع میکروارگانیسم مورد آزمایش باشد.

راد و همکاران در سال ۱۳۸۹ که اثر محلول گیاهی مورد را با پماد موضعی داخلی تریامسینولون در درمان آفت مقایسه نمودند، مشاهده کردند که اثر این گیاه با داروی فوق برابری داشته و با گذشت زمان این اثر افزایش یافت (۸۷) که با تحقیق ما همسو بوده بطوریکه در مطالعه ما نیز این گیاه در غلظت های پایین (۳، ۵ و ۱۰) اثری روی انگل نداشت ولی با افزایش غلظت (۵۰ mg/ml و ۱۰۰) به میزان ۱۰۰٪ باعث مرگ انگل شد.

Sen و همکاران که اثر عصاره آبی ۱۰ نوع گیاه از جمله گیاه مورد را روی چند گونه قارچ عامل فساد چوب بررسی نمودند، مشاهده کردند که از بین عصاره گیاهان مورد آزمایش، گیاه مورد دارای خواص ضد قارچی متوسطی بود و این اثر از + (رشد میسلیم) تا +++ (عدم رشد) برای گونه های مختلف قارچی متغیر بود که حاکی از اثر متغیر این گیاه روی میکروارگانیسم های مختلف می باشد (۸۹). در مطالعه حاضر نیز اثر گیاه روی انگل متغیر بوده و از بی اثر بودن آن در غلظت های پائین تا اثر ۱۰۰ درصد روی پروتواسکولکس ها در غلظت های بالا متفاوت بود که این اثر احتمالا به دلیل نوع انگل باشد.

در سال ۲۰۱۴ اثر ضد باکتری عصاره های گیاهانی چون *Aeromonas hydrophila* (عامل بیماری در ماهی) توسط Al Laham و همکاران بررسی شد. عصاره ها اثرات متفاوتی روی باکتری مورد نظر داشتند. آنها مشاهده کردند که این گیاه میزان ۹۶/۸۹٪ از باکتری ها را از بین برد. در این تحقیق باکتری مورد آزمایش به بسیاری از آنتی بیوتیک بجز آمیکاسین مقاوم بود و استفاده از گیاهان بجای مواد شیمیایی برای از بین بردن این باکتری پیشنهاد شد (۹۰).

اثر حشره کشی اسانس چند گونه گیاهی از جمله مورد که در مقابل لارو پشه آئدس آلبوپیکتوس توسط Conti و همکاران بررسی شد، مشاهده کردند که گیاه فوق از بین غلظت های مورد آزمایش (۵۰ppm، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰) فقط در غلظت هایی بین ۲۵۰ppm تا ۳۰۰ باعث از بین رفتن ۵۰٪ از لاروها گردید و مشاهده کردند که در غلظت های پایین درصد اثر، کم و غیر قابل توجه بود. در این آزمایش شدت مرگ و میر لاروها همسو با مطالعه ما کاملاً وابسته به غلظت گیاه بود (۹۱).

Fani و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر اسانس گیاه مورد را روی باکتری های پاتوژن ایزوله از دهان مطالعه کردند. آنها اسانس را با غلظت های $3/9 \mu\text{g/ml}$ تا ۱۰۰۰ تهیه نمودند. در این تحقیق مشاهده شد که استرپتوکوک پیوژن با غلظت $7/8 \mu\text{g/ml}$ و بقیه پاتوژن ها با غلظت های $125 \mu\text{g/ml}$ تا ۱۰۰۰ اسانس مذکور به طور کامل از بین رفتند. طبق این تحقیق احتمالاً اثر گیاه مورد روی پاتوژن های دهانی به دلیل وجود ترکیباتی از جمله آلفا پینن، لیمونن، ۸-۱ سینئول، تانن، فلاونوئیدها و رودومیرتون باشد (۹۲). در مطالعه حاضر به دلیل استفاده از عصاره گیاه، بیشترین اثر روی پروتواسکولکس ها در غلظت های بالا اتفاق افتاد که این تفاوت اثر، شاید مربوط به تفاوت استفاده از گیاه بصورت عصاره یا اسانس باشد.

در سال ۱۳۸۷ توسط نائینی و همکاران اثرات ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله مورد را روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار دادند و این اثر را با تاثیر داروهای ضد قارچی مقایسه کردند. در مطالعه مذکور گیاه مورد نظر دارای تاثیر بیشتری نسبت به داروهای ضد قارچی بود (۶۹). در مطالعه ما نیز در غلظت های 50mg/ml و ۱۰۰ اثرات گیاه کاملاً چشمگیر بود و در تمامی مدت زمانهای مواجهه بجز ۱۰ دقیقه ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها از بین رفتند ولی در غلظت های پایین و مدت زمانهای مواجهه کم این تاثیر ناچیز بود.

در مطالعه Maxia و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر مهارى اسانس روغنى گیاه مورد روى التهاب گوش در موش صحرایی بررسی و مشاهده شد که اسانس گیاه مذکور میزان سایتوکاین های $TNF-\alpha$ و $IL-6$ را در سرم کاهش داده و همچنین ادم گوش و فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز نیز به طور قابل توجهی کاهش یافت. با توجه به این نتایج می توان گفت که اسانس گیاه مورد باعث کاهش مهاجرت لکوسیتها به بافت آسیب دیده شده و دارای اثر ضد التهابی می باشد (۱۴۲). در مطالعه حاضر نتیجه بررسی عصاره گیاه مورد باعث افزایش بیان مارکرهاى بلوغ سلول های دندريتیک ($CD86$, $CD40$ و $MHCII$) در بالاترین غلظت ($100 \mu g/ml$) شد که این افزایش در مورد مارکر $CD40$ معنی دار بود. برای بررسی اثرات دیگر این گیاه روى سایر سلولها و سایتوکاینهای سیستم ایمنی باید مطالعات بیشتری صورت گیرد.

طی مطالعه ای توسط Bouzabata و همکاران در سال ۲۰۱۴، اثر ضد التهابی اسانس روغنى گیاه مورد بررسی و مشاهده شد که این گیاه به طور قابل توجهی تولید نیتریک اکسید توسط ماکروفاژ را در غلظت $0.64 mg/ml$ مهار نمود، البته این کاهش تولید با غلظت رابطه مستقیم داشت. گیاه مذکور در غلظت های بالاتر از $1/5 mg/ml$ برای سلول های کراتینوسیت پوست، ماکروفاژ، هپاتوسیت ها و سلول های اندوتلیال ریوی دارای اثر سیتوتوکسیک بود. اثرات ذکر شده احتمالا با ترکیبات لینالول و لینالیل استات موجود در گیاه مرتبط باشند (۱۴۳). بنابراین، احتمالا اثر ایمونومدولاتوری گیاه مورد روى سلول های دندريتیک در تحقیق حاضر نیز می تواند به دلیل وجود ترکیبات فوق باشد اما به تحقیقات بیشتر نیاز است.

در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۷، Hayder و همکاران، اثر آنتی اکسیدانی و آنتی ژنوتوکسیک دو ترکیب فلاونوئیدی میریستین-۳-او-گالاکتوزید و میریستین-۳-او-رامنوزید موجود در گیاه مورد را بررسی نمودند. آنها مشاهده کردند که هر دو ماده در غلظت $100 \mu g/ml$ به ترتیب به میزان ۵۷ و

۵۹ درصد اثر مهارى روى فعاليت گزانتين اكسيداز داشتند. همچنين داراى اثر مهارى اكسيداسيون چربى با IC50 به ترتيب ۱۶۰ µg/ml و ۲۲۰ بودند. ميرىستين -۳- او- رامنوزيد با IC50 به ميزان ۱/۴ µg/ml راديكال هاى آزاد 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl را از بين برد. در اين تحقيق مشاهده شد كه تركيبات فوق اثر سيتوتوكسيك روى سلول هاى حاصل از سرطان CML داشته و همچنين در تنظيم الگوى بيان ژنهاى درگير در استرس هاى اكسيداتيوى، ترميم آسيب هاى DNA و آپوپتوز موثر بودند. محققين دريافتند كه گياه مورد با وجود دو تركيب ذكر شده در برگ خود مى تواند در مقابل آسيب هاى اكسيداتيوى و ژنوتوكسيك موثر باشد (۱۴۴). اثر ايمونومدولاتورى بر بيان ماركرهاى بلوغ سلول هاى دندريتيك در مطالعه اخير نيز احتمالا مى تواند به دليل وجود دو تركيبات موجود در گياه مورد باشد كه البته نياز به تحقيقات بيشترى دارد.

اثر عصاره گياه كاكوتى با غلظت ۳ mg/ml در دقايق ۱۰ تا ۴۰ و با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمان هاى مواجهه ۱۰ و ۲۰ دقيقه روى پروتواسكولكس ها، غيرقابل ملاحظه بود ولى با غلظت mg/ml ۳ در دقايق ۵۰ و ۶۰ دقيقه به ترتيب ۴۷/۹۴، ۵۰/۱۱ درصد و با غلظت ۵ mg/ml در دقايق ۳۰، ۴۰، ۵۰، و ۶۰ به ترتيب ۴۸/۸۹، ۵۲/۰۶، ۹۶/۰۷ و ۹۷/۸۶ درصد از پروتواسكولكس ها را از بين برد. در غلظت ۱۰ mg/ml در زمان ۱۰ دقيقه تاثير بر روى پروتواسكولكس ها، ۶۹/۸۸٪ بود ولى با اين غلظت در بقيه مدت زمانها و با بقيه غلظت ها در تمامى مدت زمان هاى مواجهه تاثير ۱۰۰٪ بود همچنين در بررسى اثر عصاره گياه كاكوتى بر ماركرهاى بلوغ سلول هاى دندريتيك مشاهده شد كه اين گياه در غلظت هاى ۱۰ و ۵۰ µg/ml ميزان ماركر CD86 و MHCII را كاهش و ميزان CD40 را افزايش داد. اين گياه در غلظت ۱۰۰ µg/ml باعث افزايش ارائه ماركرهاى CD40، CD86 و MHCII شده كه در مورد ماركر CD40 اين افزايش معنى دار بود (P=۰/۰۰۲).

طباطبایی یزدی و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر آنتی میکروبیال عصاره گیاهانی از جمله کاکوتی، آویشن شیرازی و گونه ای از نعنای را روی اشرشیا کلی و استافیلوکوک اورئوس بررسی نموده و مشاهده کردند که قطر هاله عدم رشد گیاه کاکوتی در مقابل استافیلوکوک در غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد به ترتیب ۹/۱ mm، ۱۱/۷، ۱۳/۲ و ۱۶/۴ و در مقابل اشرشیا کلی به ترتیب ۶/۶ mm، ۷/۹، ۱۱ و ۱۲/۷ بود. با توجه به نتایج ذکر شده، عصاره گیاه مذکور در غلظت های بالاتر اثر بیشتری روی باکتری ها داشت. در این مطالعه محققین دلیل اثرات گیاهان مورد نظر را وجود ترکیب تیمول ارزیابی کردند (۹۵). در تحقیق حاضر نیز اثر عصاره گیاه مورد نظر وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت، میزان کشندگی انگل نیز افزایش یافت که به احتمال زیاد به دلیل غلظت زیاد ماده تیمول در غلظت های بالاتر عصاره باشد.

در سال ۲۰۰۸ وردیان ریزی اثر اسانس گیاه کاکوتی کوهی در مقابل حشرات را مورد بررسی قرار داد و مشاهده کرد که اسانس این گیاه دارای فعالیت لاروکشی بوده و با افزایش غلظت میزان این اثر افزایش می یابد (۹۴). در تحقیق ما نیز با بالا رفتن غلظت، اثر کشندگی روی انگل افزایش یافت بطوریکه این گیاه در غلظت ۳ mg/ml و ۵ در مدت زمان های ۱۰ و ۲۰ دقیقه بی اثر بود ولی در غلظت های ۱۰ mg/ml به بالا و در مدت زمان مواجهه ۲۰ دقیقه میزان اثر عصاره گیاه ۱۰۰٪ بود.

سلطانی نژاد در سال ۲۰۱۱ که اثر آنتی باکتریال اسانس گیاه کاکوتی کوهی را روی بعضی باکتری ها بررسی نمود مشاهده کرد که باکتری سودوموناس به اسانس گیاه مذکور مقاوم بوده ولی باکتری لیستریا کاملاً حساس بود و به طور کامل در مقابل اسانس آن از بین رفت در حالیکه بقیه باکتری های مورد آزمایش به نسبت های متفاوت تحت تاثیر اسانس قرار گرفتند که این اختلاف ممکن است به دلیل تفاوت نوع ساختمان میکروارگانیسم ها باشد. همچنین وجود ماده پولگون در این عصاره نیز یکی از دلایل از بین رفتن باکتری ها گزارش شد (۹۶).

در مطالعه ای دیگر نیز که توسط مهربان سنگ آتش و همکاران انجام شد، اثر ضد میکروبی عصاره گیاه کاکوتی کوهی بر باکتری های مولد فساد مواد غذایی بررسی گردید و مشاهده شد که حساسیت باکتری های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت کمتر بوده که ممکن است به دلیل نوع غشای باکتری های گرم منفی باشد (۹۳). با توجه به دو تحقیق ذکر شده می توان گفت که احتمالاً تفاوت در اثر کشندگی غلظت های مختلف و مدت زمان های مواجهه متفاوت اسانس گیاه مذکور در تحقیق ما نیز وابسته به ساختمان انگل باشد.

اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی توسط امیری و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در روش DPPH (رادیکال های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل) میزان IC50 در عصاره و اسانس به ترتیب $21/4 \mu\text{g/ml}$ و $55/3$ درصد بود و می توان گفت که گیاه مذکور به طور قابل توجهی میزان رادیکال های آزاد DPPH را کاهش داد، البته اثر اسانس بیشتر از عصاره بود. در روش β -کاروتن-لینولئیک اسید، میزان بازدارندگی عصاره و اسانس به ترتیب $89/3 \mu\text{g/ml}$ و $61/6$ درصد گزارش شد. اثرات آنتی اکسیدانی گیاه کاکوتی احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات پلی فنل، فلاون ها و فلاونوئیدها باشد (۱۴۵). در مطالعه ما نیز با توجه به اینکه گیاه مورد آزمایش از گونه های *Ziziphora* می باشد، احتمال دارد خاصیت ایمنومدولاتوری آن به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی ذکر شده در عصاره کاکوتی کوهی باشد.

در تحقیق دیگری در سال ۲۰۰۹، نائینی و همکاران اثر ایمنومدولاتوری عصاره گیاه کاکوتی را ارزیابی نموده و مشاهده کردند که ویابیلیتی و فعالیت قارچ کشی ماکروفاژهای پریئون موش و همچنین میزان تولید ROS در غلظت های 10 و 20 mg/ml به طور قابل توجهی افزایش یافت ولی این عصاره اثری روی تولید نیتریک اکسید توسط ماکروفاژ نداشت. با توجه به مطالعه فوق گیاه

کاکوتی دارای اثر ایمنومدولاتوری قابل توجهی می باشد (۱۴۶). در تحقیق ما نیز این گیاه دارای اثر ایمنومدولاتوری قابل توجهی بر بروز مارکرهای سلول های دندریتیک بود.

شیرازی و همکاران، مکانیسم مولکولی اثر محافظتی عصاره گیاه کاکوتی کوهی را در مقابل داروی دکستران سدیم سولفات در بیماری کولیت در موش بررسی نمودند. نتایج نشان دادند که میزان پراکسیداسیون لیپید، نیتریک اکسید و $TNF-\alpha$ در حضور داروی مورد استفاده، افزایش می یابند در حالیکه ظرفیت آنتی اکسیدانی و آنزیم های اکسیدانی از جمله سوپر اکسید دسموتاز و پراکسیداز کاهش داشتند. در این تحقیق مشاهده شد که این تغییرات در حضور عصاره گیاه مذکور بهبود یافته و به وضعیت نرمال برگشتند. پس می توان گفت که این گیاه دارای خاصیت محافظتی در کولیت موش می باشد (۱۴۷). با توجه به اینکه دو گونه گیاهی *Z.tenuior* و *Z.clinopodioides* که در یک جنس قرار دارند و به دلیل وجود ترکیبات مشابه احتمالا اثرات ایمنومدولاتوری مشابهی نیز داشته باشند که نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می باشد.

در مطالعه ای دیگر توسط غفاری و همکاران اثر محافظتی عصاره گیاه کاکوتی کوهی در مقابل اثرات اسید استیک در بیماری کولیت بررسی شد. در حضور اسید استیک میزان میلوپراکسیداز و پراکسیداسیون لیپید افزایش می یابد ولی بعد از استفاده عصاره گیاه، مخصوصا در غلظت 300 mg/kg میزان آنها کاهش قابل توجهی نشان داد. پس می توان نتیجه گرفت که گیاه کاکوتی می تواند اثرات سمی اسید استیک را روی مخاط روده، با مهار استرس های اکسیداتیو سلولی (cellular oxidative stress) کنترل نماید (۱۴۸). در تحقیق فوق، عصاره گیاه کاکوتی کوهی در غلظت های بالا دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی بود در مطالعه ما نیز گونه *Z.tenuior* در غلظت های بالا اثر ایمنومدولاتوری قابل توجهی داشت.

اسانس گیاه اسطوخودوس با غلظت ۳ mg/ml در همه زمانهای مواجهه تاثیر چندانی روی پروتواسکولکس ها نداشت ولی با غلظت ۵ mg/ml در دقایق ۱۰ تا ۶۰ دقیقه به ترتیب تاثیرش بر روی پروتواسکولکس ها ۶۳/۹۱، ۸۵/۴۲، ۹۰/۹۸، ۹۵/۲۴، ۹۶/۶۶ و ۱۰۰ درصد بود. در بقیه غلظت ها و در تمامی مدت زمان های مواجهه بجز ۱۰ mg/ml و ۱۰ دقیقه این اثر ۱۰۰٪ بود و در غلظت ۱۰ mg/ml اثر آن روی پروتواسکولکس ها در ۱۰ دقیقه به میزان ۹۹/۳۴٪ گزارش گردید همچنین در این تحقیق، اثر ایمونومدولاتوری اسانس گیاه اسطوخودوس بر روی سلول های دندریتیک بررسی شد. این گیاه در غلظت های ۱۰ μg/ml و ۵۰ و ۱۰۰ باعث کاهش میزان مارکرهای CD86 و CD40 شد که این کاهش در غلظت ۱۰۰ μg/ml برای مارکرهای فوق معنی دار بود ($P < ۰/۰۵$). این گیاه در غلظت ۱۰ μg/ml باعث افزایش مارکر MHCII شده و در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ μg/ml این مارکر را کاهش داد که البته در غلظت ۱۰۰ μg/ml برای این مارکر دارای اثر معنی داری بود ($P < ۰/۰۵$).

Moon و همکاران در سال ۲۰۰۶ فعالیت آنتی پارازیتی اسطوخودوس را در مقابل ژیا ردیا دئودنالیس، تریکوموناس واژینالیس و هگزامیتا (انگل ماهی) مورد بررسی قرار دادند. آنها از غلظت های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد اسانس این گیاه استفاده کرده و مشاهده نمودند که گیاه اسطوخودوس با غلظت های ۰/۵ و ۱ درصد در مدت زمان ۲۰ دقیقه ۱۰۰٪ انگل ها را از بین برد ولی در غلظت ۰/۱٪ این اثر بعد از گذشت ۸۵ دقیقه حادث شد (۱۰۰). چنانکه ملاحظه می شود در این تحقیق نیز همچون بررسی ما با افزایش غلظت و مدت زمان مواجهه، اثر گیاهان روی میکروارگانیسم ها بیشتر می شود.

Sen و همکاران که در سال ۲۰۰۹ اثر عصاره آبی ۱۰ نوع گیاه از جمله اسطوخودوس را روی چند گونه قارچ عامل فساد چوب بررسی نمودند، مشاهده کردند که از بین عصاره گیاهان مورد آزمایش فقط دو گیاه از جمله اسطوخودوس دارای خواص ضد قارچی بوده و این اثر از ۵۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود که حاکی از اثر مناسب این گیاه روی میکروارگانیسم ها از جمله قارچ ها می باشد (۸۹).

D'Auria و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر اسطوخودوس و ترکیبات لینالول و لینالیل استات را در مقابل کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار دادند. غلظت های مورد استفاده به میزان ۰/۰۰۷۸ تا ۴ درصد در نظر گرفته شد. آنها مشاهده کردند که اسانس روغنی لاواندر در غلظت ۰/۱۲۵ تا ۲ درصد مانع رشد قارچ شده و اثر کشندگی این گیاه از غلظت ۰/۵ درصد شروع و تا ۴ درصد ادامه یافت بطوریکه در غلظت ۰/۵٪ در مدت زمان ۳۰ دقیقه به میزان ۹۸٪ قارچها را از بین برد و در غلظت ۲٪ در مدت زمان های ۵ و ۱۵ دقیقه به ترتیب به میزان ۹۹ و ۱۰۰ درصد باعث مرگ کاندیدا شد. در این مطالعه آنها مشاهده کردند که ترکیب لینالول در غلظت ۰/۵٪ در مدت ۳۰ دقیقه به میزان ۱۰۰ درصد باعث مرگ قارچ شد. همچنین در آنالیز ترکیبات شیمیائی اسانس مشاهده نمودند که لینالول و لینالیل استات به نسبتهای ۳۲/۷۵ و ۴۳/۱۳ درصد (تقریباً ۷۵٪) در گیاه اسطوخودوس وجود دارد. بر طبق این مطالعه لینالول دلیل اصلی قارچ کشی گیاه اسطوخودوس گزارش گردید (۱۰۱) همانطور که گفته شد در تحقیق بالا لاواندر از غلظت ۰/۰۰۷۸ تا ۰/۱۲۵ درصد اثری روی کشندگی قارچ ها نداشت ولی هر چه غلظت اسانس افزایش می یافت اثر آن روی مرگ قارچ ها بیشتر شده بطوریکه در غلظت ۰/۵٪ در مدت زمان ۳۰ دقیقه به میزان ۹۸٪ قارچها را از بین رفتند و در غلظت ۲٪ از اسانس در مدت زمان ۱۵ دقیقه میزان ۱۰۰٪ قارچها از بین رفت. در مطالعه ما نیز در غلظت پائین (۳ mg/ml) اثر چندانی در مرگ پروتواسکولکس ها نداشت ولی با افزایش غلظت به ۵ mg/ml در زمان ۱۰ دقیقه ۶۳/۹۱٪ از پروتواسکولکس ها از بین رفتند و هر چه غلظت اسانس بیشتر شد این اثر نیز افزایش یافت.

در مطالعه ای دیگر مقایسه اثر ضد قارچی اسانس *Lavandula viridis* و ترکیبات شیمیایی شامل لینالول، آلفا پینن، ۸-۱ سینئول و کامفور توسط *Zuzarte* و همکاران انجام شد. در این تحقیق

از غلظت های سریالی اسانس استفاده شد و همچنین ترکیبات موجود در گیاه اسطوخودوس به طور جداگانه تهیه و اثرات آنها روی گونه های مختلف قارچی مورد بررسی قرار گرفت. آنها مشاهده نمودند که اسانس گیاه مورد نظر در گونه های مختلف قارچی دارای اثر متفاوتی بوده و همچنین ترکیب آلفا پینن دارای خاصیت ضد قارچی بالایی بود. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق گزارش شد که آلفا پینن از ترکیبات مهم موثره در کشندگی قارچ ها در گیاه اسطوخودوس می باشد (۱۰۲). در مطالعه حاضر نیز گیاه مورد نظر دارای اثر مناسبی روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک بود که احتمالاً به دلیل وجود این ترکیب باشد.

در تحقیق Conti و همکاران اثر حشره کشی اسانس روغنی چند گیاه از جمله اسطوخودوس روی لارو پشه آندس آلبوپیکتوس بررسی شد و مشاهده گردید که اثر کشندگی این گیاه با غلظت های ۵۰ppm، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ به ترتیب صفر، ۳/۳، ۶/۷، ۲۰، ۳۸/۳۰ و ۵۵ درصد بود و در غلظت های بین ۲۵۰ppm تا ۳۰۰ باعث از بین رفتن ۵۰٪ از لاروها گردید. در طی این آزمایش آنها دریافتند که شدت مرگ و میر لاروها کاملاً وابسته به غلظت اسانس بود (۹۱). در تحقیق ما نیز همسو با مطالعه ذکر شده با افزایش غلظت اسانس میزان کشندگی آن بالا رفت.

میرکاظمی و همکاران که سمیت تنفسی هفت غلظت مختلف (۱۸۵/۲، ۳۷۰/۴، ۵۵۵/۵، ۷۴۰/۷، ۹۲۵/۴، ۱۱۱۱/۱ و ۱۲۹۶/۳ میکرولیتر در لیتر آب) از اسانسهای ۵ گونه گیاهی از جمله اسطوخودوس را روی دو گونه مهم آفت انباری سوسک چهارنقطه ای حبوبات و شپشه آرد مورد بررسی قرار دادند مشاهده نمودند که میزان مرگ و میر حشرات با گذشت زمان مواجهه با اسانس و در غلظت های مختلف آن تغییر کرد. در غلظتهای بالا با گذشت زمان، مرگ و میر بالاتری گزارش شد (۱۰۳). در تحقیق مذکور، اسانس گیاه مورد نظر روی گونه های مختلف حشرات اثر متفاوتی داشت که حاکی از

تأثیر متغیر گیاه اسطوخودوس روی میکروارگانسیم های متفاوت می باشد همانطور که در مطالعه ما نیز این گیاه روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک تأثیر بسزایی داشت.

در سال ۱۳۹۰ گلستانی کلات و همکاران اثر سمیت تنفسی اسانس گیاه اسطوخودوس را بر روی سوسک چهارنقطه ای حبوبات بررسی کردند. در این تحقیق نیز اثر گیاه روی حشرات با غلظت و مدت زمان اسانس دهی همبستگی مثبت و معنی داری داشت (۹۷). همانطور که ذکر شد مطالعه ما نیز با تحقیق بالا همخوان بوده و بین غلظت و مدت زمان اسانس دهی همبستگی مثبت وجود داشت.

طی یک مطالعه مروری، Perez و همکاران اثر دو گونه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* و *Lavandula intermedia*) را روی تک یاخته های مختلفی از جمله ژیا ردیا مطالعه کردند و مشاهده شد که دو اسانس مورد نظر دارای کاهش معنی داری در ویابیلیتی این انگل ها بودند (۱۰۴) که با مطالعه حاضر مطابقت داشته و گیاه اسطوخودوس در بعضی غلظت ها اثر با ارزشی در کاهش ویابیلیتی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک دارد.

در مطالعه دیگری توسط خیر آبادی و همکاران اثر گیاه اسطوخودوس روی کنه ریپی سفالوس بررسی شد. نتایج نشان داد که این گیاه در غلظت های بیشتر از ۰.۴٪ اثر حشره کشی قابل توجهی داشت و با غلظتهای ۴ تا ۸ درصد به ترتیب ۷۳/۲۶ و ۱۰۰ درصد باعث مرگ حشره ها شد (۱۰۵). در مطالعه ما نیز غلظت ۵ mg/ml به بالا دارای اثر کشندگی روی انگل بود و غلظت های ۲۵ mg/ml، ۵۰ و ۱۰۰ باعث از بین رفتن همه پروتواسکولکس ها شد. همچنین در تحقیق ذکر شده در حضور اسانس گیاه مذکور، وزن تخم کنه ها کاهش داشته و مشاهده شد که این کاهش به غلظت اسانس وابسته بوده (۱۰۵) که با مطالعه حاضر همسو می باشد.

در تحقیق نائینی و همکاران که اثرات ضد کاندیدایی اسانس و عصاره ۵۰ گیاه دارویی از جمله اسطوخودوس روی سویه ی استاندارد کاندیدا آلبیکنس بررسی شد مشاهده گردید که از ۵۰ گیاه مورد

مطالعه ۱۶ گیاه دارای فعالیت ضد کاندیدی بود. در این مطالعه قطر هاله مربوط به عدم رشد داروهای ضد قارچ مورد استفاده از جمله آمفوتریسین B، کتوکنازول و نیستاتین به ترتیب ۱۶ mm، ۲۳ و ۲۵ به دست آمد در صورتی که این اثر در مورد اسانس گیاه اسطوخودوس بسیار قوی تر و قطر هاله عدم رشد آن ۴۵ mm گزارش شد (۶۹). همانگونه که ملاحظه می شود از بین ۵۰ گونه گیاهی، اسطوخودوس از جمله گیاهانی بود که دارای اثر ضد قارچی بالایی بود. در مطالعه ما نیز این گیاه اثر مناسب و خوبی روی پروتواسکولکس ها داشت.

Hammer و همکاران در تحقیقی فعالیت ضد میکروبی اسانس اسطوخودوس را مورد بررسی قرار دادند. آنها اثر غلظت های ۰/۰۳ تا ۲ درصد اسانس گیاه مذکور را روی میکروب ها و قارچ ها مطالعه کرده و مشاهده نمودند که میزان MIC این گیاه در مقابل کاندیدا آلبیکانس و استافیلوکوک اورئوس ۰/۵ درصد و MCC آن ۱٪ بود در حالیکه MIC و MCC در مقابل اشرشیا کلی ۰/۲۵ درصد گزارش شد (۷۰). همانطور که در تحقیق فوق ملاحظه می شود حداقل غلظت ممانعت از رشد اسانس گیاه مذکور در مقابل کاندیدا و استافیلوکوک ۰/۵٪ بوده و با افزایش غلظت به ۱٪ میکروارگانیزم ها به طور کامل از بین رفتند در مطالعه نیز با افزایش غلظت، شاهد مرگ تعداد بیشتری از پروتواسکولکس ها بودیم.

Jaenson و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر دور کنندگی اسطوخودوس را روی حشرات مطالعه نمودند و مشاهده کردند که اسانس لاواندر هنگامی که با ۲۱ پروپاندیول به صورت ۱٪ رقیق شود دارای فعالیت دورکنندگی ضعیف حشرات ولی در رقت ۳۰٪ این اثر ۱۰۰٪ می باشد (۱۰۶) که از این نظر با مطالعه حاضر مطابق بوده بطوریکه این گیاه در غلظت ۳ mg/ml تاثیر چندانی روی انگل نداشت ولی با افزایش غلظت مخصوصاً در غلظت ۱۰۰ mg/ml همه پروتواسکولکس ها از بین رفتند.

در چند تحقیق دیگر از جمله مطالعات Sokovic ، Sienkiewicz و همکاران اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه اسطوخودوس بررسی و مشاهده شد که این گیاه می تواند روی گونه های مختلف باکتری نیز اثر مناسبی داشته باشد که طبق نظر Sokovic ممکن است به دلیل وجود ترکیبات موجود در اسانس این گیاه از جمله سینئول، کارواکرول، کامفور، تیمول، لینالول، لینالیل استات، آلفا و بتا پینن و لیمونن باشد (۱۰۷، ۱۰۸) که در تحقیق حاضر نیز اثر مناسب اسانس گیاه مورد نظر ممکن است به دلیل وجود ترکیبات مذکور باشد.

در مطالعه ای توسط Zuzarte و همکاران، اثر ضد التهابی اسانس دو گیاه *Lavandula stoechas* و *Thymus herba-barona* بررسی شد. مشاهده شد که گیاه اسطوخودوس در غلظت های $0.08, 0.16, 0.32 \mu\text{l/ml}$ اثر سیتوتوکسیکی روی ماکروفاژ نداشت ولی در غلظت های بالاتر باعث کاهش ویابیلیتی آن شد. گیاه آویشن در غلظت های بالا باعث کاهش ویابیلیتی ماکروفاژ گردید. از طرفی ماکروفاژ در حضور لیپوپلی ساکارید، میزان زیادی NO تولید می کند و وقتی که این سلول در مجاور اسانس گیاه اسطوخودوس قرار می گیرد، تولید NO در غلظت های $0.16 \mu\text{l/ml}$ تا $1/25$ مهار می شود. در گزارش قبلی برای گیاه آویشن اثر ضد التهابی چندانی گزارش نشد (۱۵۰). در مطالعه ما نیز گیاه *Lavandula angustifolia* دارای اثر ایمونومدولاتوری قابل توجهی مخصوصا در غلظت های بالا بود.

در مطالعه ای دیگر که Dalilan و همکاران، اثر ضد سرطانی عصاره آبی گیاه اسطوخودوس را روی سلول های لنفوسیت مشتق شده از بیماران لنفوم هوچکین بررسی نمودند، مشاهده شد که گیاه مذکور با $100 \mu\text{g/ml}$ باعث کاهش ویابیلیتی لنفوسیت ها شده و همچنین تکثیر این سلول ها را مهار کرد. آپوپتوز یک مکانیسم مهم در سلول های هوچکین مواجه شده با اسانس گیاه فوق بود

(۱۵۱). همانند مطالعه ذکر شده، در تحقیق ما نیز گیاه اسطوخودوس دارای اثر مهارى روى سلول هاى

دندريتیک داشته و بيان مارکرهاى بلوغ اين سلول را به طور قابل توجهی کاهش داد.

اثر سيتوتوکسیک و آپوپتوتیک اسانس و چند عصاره گیاه اسطوخودوس روى سلول هاى سرطان دهانه رحم، توسط امیری و همکاران در سال ۲۰۱۲ بررسی و مشاهده شد که رشد سلول هاى سرطانی در حضور این گیاه مهار شد. تجمع DNA در فاز G1 چرخه سلولی از شواهد آپوپتوز سلول هاى سرطانی بود (۱۵۲). اثر ایمونومودولاتوری این گیاه در مطالعه ما نیز مشاهده شد که البته بررسی اثرات سلولی دیگر، نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

Ueno-Iio و همکاران در سال ۲۰۱۴ اثر استنشاقی اسانس گیاه اسطوخودوس را در سرکوب التهاب آلرژیک راه هاى هوایی و هیپرپلازی سلولی موکوس در مدل موشی آسم بررسی نموده و مشاهده کردند که در گروه هاى مواجهه شده با اسانس، تعداد سلول ها و ائوزینوفیل در مایع داخل برونش ها و نیز هیپرپلازی موکوسی کمتر شد. همچنین در این گروه میزان IL-5 و IL-13 در مایع فوق و بیان mRNA سایتوکاین هاى IL-4 و IL-5 در بافت ریه کاهش داشت. محققین دریافتند که اسانس لاواندر، التهاب آلرژیک و هیپرپلازی موکوسی را بوسیله سرکوب سایتوکاین هاى Th₂ مهار می کند (۱۵۳). در مطالعه حاضر گیاه اسطوخودوس روى مارکرهاى بلوغ سلول هاى دندريتیک دارای اثر مهارى قابل توجهی بود البته برای بررسی اثرات دیگر این گیاه روى سایر سلولها و سایتوکاینهای سیستم ایمنی باید مطالعات دیگری صورت گیرد.

اسانس گیاه دارچین با غلظت هاى ۳ mg/ml و ۵ اثرش فقط در دقایق ۱۰ تا ۳۰ دقیقه مواجهه ناچیز بود ولی در مدت زمانهای مواجهه ۴۰، ۵۰، و ۶۰ دقیقه با غلظت ۳ mg/ml این اثر، قابل ملاحظه بوده و به ترتیب ۸۴/۹۳، ۹۱/۴۶ و ۹۹/۲۷ درصد گزارش شده است و با غلظت ۵ mg/ml در مدت زمانهای ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه این اثر به ترتیب ۹۶/۴۴، ۹۹/۶۶ و ۱۰۰ درصد بود. در این گیاه با غلظت mg/ml

۱۰ در مدت زمانهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه به ترتیب ۴۷/۱۰، ۹۲/۲۸ و ۹۷/۲۲ درصد و با این غلظت از ۶۰ دقیقه به بعد و با غلظت ۲۵ mg/ml از ۳۰ دقیقه به بعد و در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml در تمامی مدت زمانهای مواجهه این اثر ۱۰۰٪ بود، البته غلظت ۲۵ mg/ml در مدت زمانهای مواجهه ۱۰ و ۲۰ دقیقه به ترتیب به میزان ۹۷/۲۵ و ۹۹/۲۰ درصد روی مرگ پروتواسکولکس ها موثر بود همچنین اثر اسانس گیاه دارچین روی مارکرهای بلوغ سلولهای دندریتیک بررسی شد و مشاهده گردید که این گیاه در غلظت های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ µg/ml دارای اثر قابل توجهی در کاهش مارکرهای CD86 و CD40 و MHCII بوده و با توجه به بررسی های آماری این اثر معنی دار بود ($P < 0.05$).

Amarasinghe و همکاران که اثر اسانس برگ و پوست گیاه دارچین را بر روی نماتود مولد گره ریشه برنج بررسی نمودند مشاهده کردند که اسانس برگ در غلظت ۰/۰۱ ppm حدود ۲۵٪ و اسانس پوست در غلظت ۰/۱ ppm تقریباً ۳۵٪ انگل ها را از بین برد و بالاترین درصد مرگ نماتود در غلظت ۰/۹ ppm برای هر دو اسانس حدوداً به میزان ۶۰٪ گزارش شد. البته بین اثر اسانس برگ و اسانس پوست اختلاف معنی داری وجود نداشت. در این تحقیق دیده شد که با افزایش غلظت، درصد کشندگی نیز بالا رفت (۱۰۹). در تحقیق ما نیز اسانس دارچین با افزایش غلظت اثر بیشتری در مرگ پروتواسکولکس ها داشت بطوریکه در غلظت ۳mg/ml در زمان ۱۰ تا ۳۰ دقیقه اثرش ناچیز بود ولی با افزایش غلظت تا ۱۰۰mg/ml این اثر به ۱۰۰٪ رسید.

در مطالعه Nadia و همکاران اثر اسانس دارچین روی بیماری کریپتوسپوریديازیس در موش بررسی شد. نتایج نشان داد که اسانس دارچین بر روی عفونت آزمایشگاهی با کریپتوسپوریديوم پارووم موثر بوده و همانطور که مشاهده شد تعداد اوسیست در روز اول در مدفوع موش ۶۰ عدد بوده در حالیکه با گذشت زمان مواجهه با اسانس، این تعداد کمتر و بعد از ۱۷ روز هیچ اوسیستی دیده نشد (۱۱۰).

در تحقیق فوق با گذشت زمان مواجهه انگل با اسانس، میزان مرگ و میر بیشتر شد در مطالعه ما نیز با گذشت زمان مواجهه اثر اسانس در کشندگی پروتواسکولکس ها افزایش یافت به گونه ای که در غلظت های ۳ mg/ml و ۵ در مدت زمان های ۱۰ تا ۳۰ دقیقه اثر چندانی مشاهده نشد ولی در زمان ۴۰ تا ۶۰ دقیقه برای ۳ mg/ml به ترتیب ۸۴/۹۳، ۹۱/۶۴ و ۹۹/۲۷ درصد و برای غلظت ۵ mg/ml در زمانهای مذکور به ترتیب ۹۶/۴، ۹۹/۶۶ و ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس ها از بین رفتند.

در تحقیق Fichi و همکاران اثر ضد انگلی اسانس گیاه دارچین روی عامل مولد گال بررسی شد. نتایج نشان داد که اسانس این گیاه در غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱ و ۰/۱۶ درصد به ترتیب به میزان ۵/۸۸، ۱۶/۶۷، ۶۹/۶۶ و ۹۶/۷۷ درصد و در غلظت های ۰/۳۱، ۰/۶۲، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد به میزان ۱۰۰٪ باعث از بین رفتن انگل ها شد. در آنالیز اسانس گیاه مورد نظر، ترکیباتی از جمله اتوژنول، لینالول، بتا کاریوفیلین، اتوژنیل استات، سافرول، بنزیل بنزوات و آلفا کوپین یافت شد که احتمال داده می شود یکی از دلایل اثر کشندگی اسانس گیاه دارچین روی انگل ها وجود این ترکیبات باشد (۱۱۱). در این تحقیق با افزایش غلظت، اثر گیاه روی انگل ها بیشتر شد که از این نظر با تحقیق ما همسو است و طبق مطالعه فوق احتمال دارد اثر مناسب اسانس این گیاه روی پروتواسکولکس ها به دلیل وجود مواد ذکر شده در گیاه باشد.

Azima و همکاران اثر عصاره ۶ گونه گیاه از جمله دارچین را روی لارو کنه Leptotrombidium deliense بررسی کرده و مشاهده کردند که با افزایش غلظت عصاره گیاهان، اثر دورکنندگی آنها بیشتر خواهد شد. عصاره دارچین در غلظت های ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ به ترتیب به میزان ۲۳، ۵۶، ۶۰، ۷۶، ۹۰ و ۹۳ درصد روی لاروها اثر داشت. در تحقیق ذکر شده گیاهان مختلف با غلظت های متفاوت، اثرات متغیری روی حشرات داشته و گیاهی چون دارچین می تواند دارای اثر دور کنندگی

مناسبی باشد (۱۱۲) که در مطالعه ما نیز اسانس این گیاه با غلظت های مختلف دارای اثر متفاوت و مناسبی روی پروتواسکولکس ها بود.

عطائی و همکاران در مقایسه اثر ضد قارچی عصاره چند گیاه از جمله دارچین با دهان شویه نیستاتین روی سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس، مشاهده کردند که عصاره این گیاه دارای خاصیت ضد قارچی مناسبی است. در هر یک از گیاهان مذکور، میانگین سطح عدم رشد قارچ ها با افزایش رقت به طور معنی داری کاهش داشت. قارچ در عصاره گیاه دارچین در رقت های $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{20}$ و $\frac{1}{40}$ به

نسبتهای متفاوت رشد نمود ولی در رقت های $\frac{1}{20}$ و $\frac{1}{40}$ کاملاً از بین رفت (۱۱۳) پس می توان گفت که در این تحقیق نیز همانند تحقیق ما غلظت عصاره و اسانس گیاهی در خاصیت کشندگی آن موثر بوده و هر چه میکروارگانیسم ها با میزان عصاره و اسانس بیشتری مواجه شود تاثیر بیشتری از آنها می پذیرد.

در تحقیق رنجبریان و همکاران نیز که اثر ضد باکتریایی عصاره گیاهی دارچین بر روی ۱۴ سویه هلیکوباکتر پیلوری بررسی شد. از ۱۴ سویه هلیکوباکتر پیلوری ۶ مورد به عصاره دارچین حساس بودند (۱۱۴). طبق مطالعه ذکر شده اسانس دارچین می تواند روی میکروارگانیسم های متفاوت اثر مناسبی داشته باشد در مطالعه ما نیز این گیاه اثر مناسبی روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک داشت.

Unlu و همکاران اثر اسانس پوست گیاه دارچین را روی ۲۱ گونه باکتری و ۴ گونه کاندیدا بررسی کردند. حداقل غلظت ممانعت از رشد بین ۰/۰۴ تا ۱/۱۲ گزارش شد. ترکیباتی از جمله سینام آلدئید (۶۸/۹۵٪)، بنز آلدئید (۹/۹۴٪)، سینامیل استات (۷/۴۴٪)، لیمونن (۴/۴۲٪) و اتوژنول (۲/۷۷٪) از این گیاه آنالیز شد. آنها احتمال دادند که اثر ضد باکتری و قارچی قوی گیاه دارچین به دلیل وجود درصد بالای ترکیب سینام آلدئید باشد (۱۱۵). در مطالعه حاضر نیز اسانس دارچین اثر خوبی روی

پروتواسکولکس ها داشت که ممکن است همانند تحقیق فوق به دلیل وجود ترکیباتی چون سینام آلدئید در این گیاه باشد.

در مطالعه ای دیگر اثر اسانس گیاه دارچین روی میزان رشد باکتری اشرشیا کلی در همبرگر بررسی گردید و مشاهده شد که غلظت های ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد دارای اثر ضد باکتریایی قوی می باشند. در این تحقیق تأثیر مقادیر مختلف اسانس بر میزان رشد باکتری معنی دار بوده و با افزایش غلظت اسانس میزان رشد باکتری کاهش یافت (۱۱۶). در تحقیق حاضر نیز همسو با مطالعه فوق با افزایش غلظت اسانس، شاهد از بین رفتن پروتواسکولکس های بیشتری بودیم.

در سال ۲۰۱۰، Sung و همکاران اثر عصاره گیاه *Cinnamomum cassia* را روی زخم های شبه درماتیدی پوست موش مطالعه کرده و مشاهده نمودند که سطح سرمی آنتی بادی IgE و نیز میزان هیستامین و $TNF-\alpha$ کاهش داشت. در بررسی هیستولوژیک، کاهش اینفیلتراسیون سلولی و التهاب مشاهده شد. در زخم های پوستی نیز بیان mRNA سایتوکاین های IL-4 و $TNF-\alpha$ در حضور عصاره مهار شد. آنها دریافتند که اسانس گیاه دارچین، توسعه زخم های آتوپیک شبه درماتیدی در پوست را توسط سرکوب پاسخ ایمنی Th_2 ، مهار کرده و مانع اینفیلتراسیون سلولی به این ناحیه می گردد (۱۵۷). در مطالعه ما اسانس دارچین دارای اثر کاهشی قابل ملاحظه ای در بیان مارکرهای سطحی سلول های دندریتیک بود که این نشانه موثر بودن این گیاه در سیستم ایمنی می باشد، البته نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه وجود دارد.

اثر ایمونومدولاتوری عصاره آبی پوست گیاه *Cinnamon* توسط Lee Bj و همکاران مطالعه شد و مشاهده شد که میزان سیستمیک $IFN-\gamma$ کاهش داشته ولی میزان IL-2 و IL-4 تغییری نداشت. در سلول های طحال موش که با آنتی بادی Anti-CD3 تحریک شده و در حضور عصاره این گیاه قرار گرفتند، میزان بیان سایتوکاین های $IFN-\gamma$ و IL-4 در سطح mRNA مهار شد. همچنین میزان سلول

های آپوپتوز و نکروز شده در حضور عصاره مذکور افزایش یافت. این تحقیق اثر ایمنومدولاتوری گیاه فوق را تقویت می کند (۱۵۸). نتایج به دست آمده در مطالعه ما نیز اثر ایمنومدولاتوری این گیاه را تأیید می کند.

اثر عصاره گیاه کافور روی پروتواسکولکس ها کاملاً قابل توجه بود. چنانکه در غلظت ۳ mg/ml و در زمان ۱۰ دقیقه مواجهه، ۹۷/۵۰٪ از پروتواسکولکس ها از بین رفت ولی با همین غلظت در مدت زمانهای مواجهه دیگر و با سایر غلظت ها در تمامی مدت زمانهای مواجهه این اثر ۱۰۰٪ بود (جدول شماره ۹) همچنین اثر ایمنومدولاتوری عصاره گیاه کافور با غلظت های مختلف روی مارکرهای بلوغ سلول های دندریتیک بررسی شد. این گیاه در غلظت های ۱۰ و ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ میزان مارکرهای CD40 و MHCII را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0/05$). این گیاه در غلظت ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ سطح مارکر CD86 را افزایش و در غلظت ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ سطح آن را کاهش داد که البته این اثرات معنی دار و قابل ارزش نبودند. غلظت ۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ در این گیاه، سطح ارائه همه مارکر ها را به مقدار قابل توجهی کاهش داد و این نتایج دارای اثر معنی داری بودند ($P < 0/05$).

Haque و همکاران اثر عصاره آبی گیاه کافور را روی کرمهای خاکی، کرمهای نواری و کرمهای گرد بررسی نموده و مشاهده کردند که غلظت ۱۰ mg/ml اثر قابل توجهی روی کرم های گرد داشت و غلظت ۵۰ mg/ml باعث مرگ همه کرم های مورد آزمایش شد (۱۱۸). مطالعه ما نیز همخوان با تحقیق فوق اثر خیلی بالایی در مرگ پروتواسکولکس ها داشت بطوریکه در غلظت ۳ mg/ml و در زمان ۱۰ دقیقه مواجهه ۹۷/۵۰٪ و در غلظت های بالاتر همه پروتواسکولکس ها را از بین برد.

در مطالعه ای توسط Rajeshwari و همکاران، اثر پماد Scavon vet Cream که حاوی اسانس چند گیاه از جمله کافور بود، روی مایت های عامل بیماری گال در خوکها بررسی و مشاهده شد که ۱۵ روز بعد از شروع درمان با پماد ذکر شده مایت ها کاملاً از بین رفتند (۱۱۹). با توجه به نتایج

تحقیق ذکر شده، مشخص گردید بعضی از گیاهان از جمله کافور با افزایش زمان مواجهه می تواند باعث کاهش جمعیت مایت ها در زخم های پوستی شود. در مطالعه حاضر نیز اثر عصاره کافور با افزایش زمان مواجهه بیشتر شده چنانکه با غلظت ۳ mg/ml در زمان ۱۰ دقیقه این اثر ۹۷/۵۰٪ بود ولی با افزایش زمان مواجهه به ۲۰ دقیقه، به میزان ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها را از بین برد.

در مطالعه ای توسط Lee HJ و همکاران اثر آنتی اکسیدانی و ضد التهابی عصاره و فراکشن های هگزانی، n- بوتانولی و اتیل استاتی گیاه کافور بررسی شد. نتایج نشان داد که در سلول های تحریک شده با لیپوپلی ساکارید میزان تولید $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و $TNF-\alpha$ در حضور عصاره های متانولی، هگزانی و اتیل استاتی به طور قابل توجهی (۲۰ تا ۷۰ درصد) متوقف شد. فراکشن های هگزانی و اتیل استاتی همچنین تولید NO را در ماکروفاژهای تحریک شده با لیپوپلی ساکارید و ایتترفرون گاما به میزان ۶۵٪ مهار کردند. عصاره متانولی و فراکشن های بوتانولی و اتیل استاتی به میزان بالایی (۷۰٪) تولید پروستاگلندین E2 را مهار کردند، همچنین آنها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بودند. نتایج فوق نشان می دهند که فعالیت ضد التهابی گیاه کافور ممکن است به دلیل تنظیم تولید NO، سایتوکاین های پیش التهابی و پروستاگلندین E2 باشد (۱۶۰). در مطالعه حاضر، عصاره اتانولی گیاه کافور دارای اثر قابل توجهی بر کاهش سه مارکر بلوغ MHCII, CD86, CD40 در سلول های دندریتیک داشت برای بررسی اثرات دیگر این گیاه روی سایر سایتوکاینهای سیستم ایمنی و همینطور بالانس پاسخ های سلولی Th_1/Th_2 ، باید مطالعات دیگری صورت گیرد.

نتیجه گیری

تمامی گیاهان مورد آزمایش بجز عصاره تخم گیاه کدو تاثیر خوبی بر روی پروتواسکولکس ها داشتند که این تاثیر در بعضی گیاهان از جمله کافور ، اسطوخودوس و کاکوتی قابل ملاحظه بود. همچنین نتایج نشان داد که برخی از گیاهان مانند تنباکو، اسطوخودوس، دارچین و کافور با کاهش درصد مارکرهای بلوغ و برخی گیاهان دیگر شامل کاکوتی و مورد با افزایش مارکرهای بلوغ دارای اثرات ایمونومدولاتوری مناسبی می باشند. لذا تحقیقات بیشتر جهت بررسی اثر آنها بر تولید سایتوکاین ها و عملکرد سلولهای دندریتیک و نیز نوع پاسخ ایمنی Th_1/Th_2 پیشنهاد می شود.

پیشنهادهات

باتوجه به اثر پروتواسکولیسیدالی مناسب گیاهان مورد نظر و همچنین اثر ایمونومدولاتوری آنها، انجام تحقیقات ذیل در آینده پیشنهاد می شود:

۱- بررسی اثر گیاهان پروتواسکولیسید بر روی ژنوتایپ های مختلف انگل اکینوкокوس گرانولوزوس

۲- بررسی اثر پروتواسکولیسیدالی و ایمونومدولاتوری گیاهان مورد مطالعه در شرایط *In vivo* و روی حیوانات آزمایشگاهی

۳- بررسی اثر فراکشن های مختلف گیاهان مذکور بر روی پروتواسکولکس ها و بررسی اثر ایمونومدولاتوری فراکشن های مذکور بصورت *In vitro*

۴- بررسی اثر این گیاهان بر تولید سایتوکاین ها از سلول های دندریتیک و بالانس پاسخ های Th_1/Th_2

۵- بررسی اثر گیاهان روی ژنوم و فاکتورهای نسخه برداری سایتوکاین ها و مارکهای سطحی سلولهای دندریتیک

۶- تعیین ترکیبات بیواکتیو گیاهان مذکور و بررسی اثر ایمونومدولاتوری این مواد روی فعالیت سیگنالهای سلول های دندریتیک و بیان T bet و GATA- 3 به عنوان فاکتورهای مرتبط با نسخه برداری برای تمایز به Th_1 و Th_2

فصل هفتم

منابع

- 1- McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The Lancet 2003 ; 362: 1295- 1304.
- 2-Schantz PM, Chai J, Eckert J et al. Epidemiology and control of hydatid disease. In : Thompson RCA ,Lymbery AJ(eds) Echinococcosis and hydatid disease. CAB International,Wallingford ;1995:233-331.
- 3- Athari A, Ansari N, Ormazdi H, Bizhan H, Janbakhsh B, Hoghoghi Rad N, et al. Essential of Helminthology. 1 ed. Tehran: Noor va Danesh. 2002:29-38.
- 4- Garg M, Gupta RK, Prasad KN, Sikora SS, Pal L, Chawla S, Kumar R, Husain M, Saxena S, Husain N, Roy R. Fertility assessment of hydatid cyst by proton MR spectroscopy. J Surg Res 2002; 106: 201-196
- 5- Mandal S,Mandal MD.Human cystic echinococcosis: epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. Asian Pac J Trop Med 2011; 253-260.
- ۶- عبدی ج. تهیه زیر واحد ۱۶ کیلو دالتونی آنتی ژن B اکینوкокوس گرانولوزوس (سویه گوسفندی ایران) و ارزیابی آن جهت تشخیص آزمایشگاهی هیداتیدوزیس انسانی به روش الیزا. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، ۸۴-۱۳۸۳.

۷- حیدری سورشجانی ز. بررسی اپیدمیولوژی کیست هیداتید انسانی با استفاده از روش الایزا در شهرستان مشکین شهر- استان اردبیل در سال ۱۳۸۹. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، ۹۰- ۱۳۸۹.

۸- مهبد اس ع، رضائیان م. انگل شناسی پزشکی مارکل، انتشارات تیمورزاده. ۱۳۸۵: ۲۲۴-۲۲۰.

9- Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. Int J Infect Dis 2009; 13:125-133.

۱۰- کریمی م ا. اثر ویتامین E و عصاره آویشن باغی و نعنای فلفلی بر عملکرد سیستم ایمنی مرغ های تخمگذار در شرایط تنش گرمائی و کیفیت داخلی خارجی تخم مرغ های تولیدی در طی مدت ماندگاری. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۹- ۱۳۸۸.

۱۱- محمود زاده پورناکی ع. تهیه و تخلیص و ارزشیابی آنتی ژن اختصاصی کیست هیداتید و کاربرد آن در تستهای سرمی. دوره دکتری انگل شناسی. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۷۳- ۱۳۷۲.

۱۲- یوسفی ح، هاشم زاده م، کهنسال ک، زبردست ن، شیرزاده، شهابی ق. بررسی اثر آنتی ژن های پروتواسکولکس کیست هیداتیک بر پیشگیری از رشد کیست های هیداتیک ثانویه. مجله ارمغان دانش. دوره ۱۱. شماره ۳. پائیز ۱۳۸۵ (شماره پی در پی ۴۳).

۱۳- فلاح عابد پ، پیوسته م. اثر جریان الکتریسیته با ولتاژ کم بر روی اسکولکس های گرانولوزوس. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی قزوین، شماره ۱۰. تابستان ۱۳۷۸: ۱۵- ۱۲.

۱۴- مودنی محمد. نگاهی به تجربیات کشورهای دیگر در زمینه کنترل کیست هیداتید. مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاوردسلامت). دوره ۱. شماره ۲. زمستان ۱۳۸۶: ۱۹- ۱۱.

- 15- Shahnazi M, Hejazi H, Salehi M, Andalib AR. Molecular characterization of human and animal *Echinococcus granulosus* isolates in Isfahan, Iran. *Acta Trop* 2011; 117(1): 47-50.
- 16- Cardona GA, Carmena D. A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. *Vet Parasitol* 2013; 192: 10 – 32.
- 17- Carmena D, Cardona G A. Echinococcosis in wild carnivorous species: Epidemiology, genotypic diversity, and implications for veterinary public health. *Vet Parasitol* 2014; 202: 69- 94.
- 18- Azlaf R, Dakkak A. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Vet Parasitol* 2006; 137: 83- 93.
- 19- Acosta- Jamett G, Cleaveland S, Cunningham AA, Bronsvoort BM, Craig PS. *Echinococcus granulosus* infection in humans and livestock in the Coquimbo region, north-central Chile. *Vet Parasitol* 2010; 169: 102- 110.
- 20- Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int. J. Infect. Dis* 2009; 13: 125-133.
- 21- Dalimi A, Motamedi Gh, Hosseini M, Mohammadian B. Echinococcosis /hydatidosis in western Iran. *Vet Parasitol* 2002; 105: 161- 171.
- 22- Zhang W, Zhang Z, Wu W, Shi B, Li J, Zhou X, Wen H, McManus DP. Epidemiology and control of echinococcosis in central Asia, with particular reference to the People's Republic of China. *Acta Trop* 2015 Jan;141(Pt B): 235-243.
- 23-Rokin M. Echinococcosis/ hydatidosis in iran. *Iran. J. Plant Pathol* 2009; 4(2): 1- 16.

24- Mansoorlakooraj H, Saadati D, Javadi R, Heydari S, Torki E, Gholami H, Mazaheri Nezhad Fard R. A survey on hydatidosis in livestock in Northern Iran based on data collected from slaughterhouses from 2004 to 2008. *Vet Parasitol* 2011; 182: 364- 367.

۲۵- قطفان ع. بررسی اثر صفرا و ترکیب نیترات نقره در گلوکز هیپرتونیک بر پروتواسکولکس های کیست هیداتید در محیط *In vitro*. دوره دکتری تخصصی جراحی عمومی. دانشکده پزشکی شهید بابائی قزوین، ۹۲- ۱۳۹۱.

26- Azami M, Anvarinejad M, Ezatpour B, Alirezae M. Prevalence of Hydatidosis in Slaughtered Animals in Iran. *Turkiye Parazit Derg* 2013; 37: 102- 106.

27- Mehrabani D, Oryan A, Sadjjadi SM. Prevalence of *Echinococcus granulosus* infection in stray dogs and herbivores in Shiraz, Iran. *Vet Parasitol* 1999; 86: 217- 220.

28- Mohammadzadeh Hajipirloo H, Bozorgomid A, Alinia T, Hazrati Tappeh KH, Mahmoodlou R. Human Cystic Echinococcosis in West Azerbaijan, Northwest Iran: A Retrospective Hospital Based Survey from 2000 To 2009. *Iranian J Parasitol* 2013; 2: 323-326.

29- Rafiei A, Hemadi A, Maraghi S, Kaikhaei B , Craig PS. Human cystic echinococcosis in nomads of south-west Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2007; 13: 41- 48

۳۰- جعفری ا. ارزیابی میزان باروری کیست هیداتید و ویابیلیتی پروتواسکولکس ها. دوره دکتری پزشکی عمومی. دانشکده پزشکی شهید بابائی قزوین، ۸۸- ۱۳۸۷.

۳۱- حضرتی تپه خ، آقازاده ج، موسوی س ج. بررسی اثر محلول آلبندازول سولفواکساید در از بین بردن پروتواسکولکسهای اکینوкокوس گرانولوزوس. مجله پزشکی ارومیه. سال نوزدهم. شماره دوم. تابستان ۱۳۸۷: ۱۲۴-۱۲۰.

32- Onal B, Demirkesen O, Citgez S, Argun B, Oner A. Laparoscopic treatment of unilocular renal hydatid cyst mimicking a simple cyst in a child. J Pediatr Urol 2008; 4: 477- 479.

۳۳- علیزاده ش، کلانتری م، احراری خ. گزارش یک مورد پارگی داخل صفاقی کیست کبدی به دنبال تصادف. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال ۱۲. شماره ۱ (شماره پیاپی ۴۶). بهار ۱۳۸۸: ۱۱۵-۱۱۱.

34- Filippou D, Tselepis D, Filippou G, Papadopoulos V. Advances in liver echinococcosis: Diagnosis and Treatment. Clin Gastroenterol Hepatol 2007; 5: 152-159.

۳۵- جمشیدی م، محرز م، زنگنه م، ماکیانی ع ج. ارزیابی درمان دارویی کیست هیداتید با آلبندازول و پرازی کوانتل. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. واحد پزشکی تهران. دوره ۱۷. شماره ۳. پاییز ۱۳۸۶: ۱۶۰-۱۵۷.

۳۶- حضرتی تپه خ، موسوی س ج، برازش ا، اسدی ا. بررسی اثر محلول متیلن بلو در از بین بردن پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه طب جنوب. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر. سال سیزدهم. شماره ۲. ۱۳۸۹: ۱۲۸-۱۲۳.

۳۷- جمال زاده ن، غفوری ع، خواجهی م. بررسی تاثیر تخلیه کیست هیداتید با هدایت التراسونوگرافی از طریق پوست. فصلنامه علمی، پژوهشی فیض. شماره ۳. پائیز ۱۳۷۶: ۳۸-۳۱.

38- Rigan OR, Buttari B, Profumo E, Ortona E, Delunardo F, Margutti P, Mattei V, Teggi A, Sorice M, Siracusano A. Echinococcus granulosus antigen B impairs human dendritic cell differentiation and polarizes immature dendritic cell maturation towards a Th2 cell response. Infect Immun 2007; 75 (4): 1667- 1678.

39- Steinman RM. The dendritic cell system and its roles in immunogenicity. Annu Rev. Immunol 1991; 9: 271- 296.

۴۰- حدادیان م. بررسی سرواپیدمیولوژیکی کیست هیداتید با روش ELISA در استان کردستان. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۶- ۱۳۸۵.

۴۱- غفاری فر ف. بررسی سرواپیدمیولوژیکی کیست هیداتید با روش Dot-ELISA در استان ایلام. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۲- ۱۳۸۱.

42- Mourglia- Ettlin G, Marques JM, Chabalgoity JA, Dematteis S. Early Peritoneal Immune Response during Echinococcus granulosus Establishment Displays a Biphasic Behavior. Plos Negl Trop Dis 2011;5(8): 1293.

43- Lutz MB. Dendritic Cells Encyclopedia of Molecular Cell Biology. Ed: R. Meyers. 2004; 3.

44- Henri S, Vremec D, Kamath A, Waithman J, Williams S, Benoist C, Burnham K, Saeland S, Handman E, Shortman K. The dendritic cell population of mouse lymphnodes. J Immunol 2001; 167: 741- 748.

45- Rescigno M, Granucci F, Citterio S, Foyi M, Ricciardi- Castagnoli P. Coordinated event during bacteria induced DC maturation. Immunol Today 1999; 20: 200- 203.

۴۶- ابراهیمی م. بررسی اثر سلول های توموری سرطان پستان (Human Brest Ductal

Carcinoma) حرارت دیده در تمایز و فعالیت سلول های دندریتیک مشتق از سلول های بنیادی

خون بندناف. دوره دکتری ایمونولوژی. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۷-۱۳۸۶.

47- Pulendran B, Smith JL, Caspary G, Brasel K, Pettit D, Maraskovsky E, Maliszewski CR. Distinct dendritic cell subset differentially regulate the class of immune response in vivo. Proc Natl Acad USA 1999; 96: 1036-1041.

48- Merad M, Fong L, Bogenberger J, Engleman EG. Differentiation of myeloid dendritic cells into CD8 α - positive dendritic cells in vivo. Blood 2000; 24: 1865- 1872.

۴۹- غضنفری ط. بررسی تاثیر سیر بر سیستم ایمنی موش Balb/c و اثر میتوژنیک آن بر لنفوسیت

های خون انسان. دوره کارشناسی ارشد. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، ۷۲-۱۳۷۱.

50- Mc Manus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. Lancet 2003; 362: 1295-1304.

51- Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004; 17: 107-135.

52- Mehra BR, Thawait AP, Gupta DO, Narang RR. Giant abdominal hydatid cyst masquerading as ovarian malignancy. Sing Med J 2007; 48: 284-286.

53- Giorgio A, Sarno AD, Stefano GD, et al. Percutaneous Treatment of Hydatid Liver Cyst. Rec Patents Anti-Infect Drug Discov 2009; 4: 29- 36.

- 54- Adas, G, Arikan S, Kemik O, Oner A, Sahip N, Karatepe O. Use of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone, and combined solutions as scolicidal agents on hydatid cysts (in vitro study). *World J Gastroenterol* 2009;15: 112- 116.
- 55- Rajabi MA. Fatal reactions and methaemoglobinaemia after silver nitrate irrigation of hydatid cyst. *Surgical Practice* 2009;13: 2- 7.
- 56- Puryan K, Karadayi K, Topcu O. Chlorhexidine gluconate: an ideal scolicidal agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis. *W J Surg* 2005; 29: 227-230.
- 57- Moazeni M, Nazer A. In vitro lethal effect of *Zingiber officinale* R. on protoscolices of hydatid cyst from sheep liver. *Microbiol Res* 2011; 2: 91- 94.
- 58- Harris JC, Plummer S, Turner MP, Lloyd D. The microaerophilic flagellate *Giardia intestinalis*: *Allium sativum* (garlic) is an effective anti-giardial. *Microbiology* 2000; 146:3119-3127.
- 59- Moazeni M, Nazer A. In vitro Effectiveness of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Scolices of Hydatid Cyst. *World J Surg* 2010; 34: 2677- 2681.
- 60- Moazeni M, Saharkhiz MJ, Hosseini AA. In vitro lethal effect of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) essential oil on hydatid cyst protoscoleces. *Vet Parasitol* 2012;187(1-2): 203- 208.
- 61-Al-Maliki ADM. Investigation of Biochemical Effect of Phenols Extract Isolated from *Coriandrum sativum* Seeds Against *Echinococcus granulosus* Parasite in Vitro. *J Thi-Qar Sci* 2008; 1: 2- 9.
- 62- Maggiore MA, Albanese AA, Gende LB, Eguaras MJ , Denegri GM, Elisondo MC. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on

Echinococcus granulosus protoscoleces and metacestodes. *Parasitol Res* 2012; 110:1103–1112.

63- Zibaei M, Sarlak A, Delfan B, Ezatpour B, Azargoon A. Scolicidal Effects of *Olea europaea* and *Satureja khuzestanica* Extracts on Protoscolices of Hydatid Cysts. *Korean J Parasitol* March 2012; 50. 1: 53-56.

64- Moazeni M , Roozitala A. High scolicidal effect of *Zataria multiflora* on protoscoleces of hydatid cyst: an in vitro study. *Comp Clin Pathol* 2012; 21 : 99-104.

۶۵- مظفریان و. فرهنگ نام های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر. ۱۳۸۵: ۳۱۴.

۶۶- رحیمی نیا م. فرهنگ مصور گیاهان دارویی، انتشارات اشکذر. چاپ سوم. ۱۳۹۰.

۶۷- امیدبیگی ر. تولید و فراوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد. ۱۳۷۹: ۳۳۲-۳۲۶.

۶۸- والنت ژ. ترجمه امامی ا، شمس اردکانی م ر، نکوئی ن. گیاه درمانی، درمان بیماری ها توسط گیاهان، انتشارات راه کمال. ۱۳۸۱.

۶۹- نائینی ع، ناصری م، کمال نژاد م، خوش زبان ف، رجبیان ط ، اسماعیل زاده نامی ح، منصوری ص، زاویه د. بررسی اثرات اسانس ها و عصاره های ۵۰ گیاه دارویی ایران روی سویه ای استاندارد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه گیاهان دارویی. سال دهم، دوره دوم. بهار ۱۳۹۰: ۱۷۲-۱۶۳.

70- Hammer KA, Carson CF , Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; 985- 990.

71- Guarrera PM. Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. J Ethnopharmacol 1999; 68: 183–192.

72-Lans Ch, Turner N. Organic parasite control for poultry and rabbits in British Columbia, Canada. J Ethnobiol Ethnomed 2011;148: 7-21.

73-Mali RG, Mehta AA .A Review on Anthelmintic Plants.Natural Product Radiance 2008; 7: 466- 475.

74- Zaman MA , Iqbal Z, Abbas RZ, Khan MN, Muhammad G, YounusM, Ahmed S. In vitro and in vivo acaricidal activity of a herbal extract. Vet Parasitol 2012; 186: 431- 436.

75- Iqbal Z, Lateef M, Jabbar A, Ghayur MN, Gilani AH. In vitro and In vivo anthelmintic activity of Nicotiana tabacum L. leaves against gastrointestinal nematodes of sheep. phytother res 2006; 20(1): 46- 48.

۷۶- بهمنی م، حسینی ر، آویژگان م، قربانی م . بررسی اثر ضد زالو عصاره متانولی تنباکو (Nicotina tabacum) در مقایسه با سوکسینیل و چند داروی ضد انگل. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. دوره ۱۲. شماره پاییز ۱۳۸۹۳: ۵۳-۵۹.

۷۷- شاد دل ع، ماهری سیس ن، آقاجانزاده گلشنی ا، اسعدی دیزجی ا، احمدزاده ع. بررسی اثر استفاده از گیاهان توتون، اسپند و آویشن کوهی در کنترل کنه واروای زنبور عسل. مجله دانش نوین کشاورزی. سال چهارم. شماره ۱۰. بهار ۱۳۸۷: ۷۲-۶۷.

۷۸- منیژه سرشتی، حسین یوسفی دارانی، نزهت زبردست، محمود رفیعیان، کوروش منوچهری نائینی، حسینعلی یوسفی. تأثیر عصاره آبی و اتانولی سرشاخه های هوایی گیاه چای کوهی بر تریکوموناس

واژیناليس در محیط کشت. فصلنامه گیاهان دارویی. سال یازدهم. دوره اول. ویژه نامه شماره ۸ زمستان ۱۳۹۰: ۱۶۵-۱۵۹.

79- Altundag E, Ozturk M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia Turkey. *Procedia Soc Behav Sci* 2011; 19: 756-777.

80- Cakilcioglu U, Khatun S, Turkoglu I, Hayta S. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J Ethnopharmacol* 2011; 137: 469- 486.

۸۱- خلیقی سیگارودی ف، جاروندی ص، تقی زاده م. کاربردهای درمانی گیاهان دارویی، انتشارات ارجمند. چاپ اول. ۱۳۸۹.

۸۲- ضیایی هزارجریبی ه، آزادبخت م، عبداللهی ف، شعبانخانی ب. تأثیر عصاره متانولی گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد روی تریکوموناس واژیناليس در محیط کشت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. دوره هشتم. شماره ۱. بهار ۱۳۸۵: ۳۸-۳۴.

۸۳- براتی م، شریفی ا، شریفی فر ف. بررسی اثرات ضد لیشمانیایی عصاره های آویشن شیرازی، اسپند و مورد با روش رنگ سنجی به صورت برون تنی (In vitro). مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. دوره هفدهم. شماره ۱. ۱۳۸۸: ۴۱-۳۲.

۸۴- شکیبایی م، حیدری م ر، احمدی نژاد م، محمدی م. اثرات ضد پلاسمیدی ۵ عصاره گیاهی از گیاهان دارویی بر روی سوشهای مقاوم کلبسیلا پنومونیه. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان. سال نهم. شماره ۳۳ و ۳۴. بهار و تابستان ۱۳۷۹: ۱۰-۱.

85- Shahidi Bojnord GH. Anti bacterial activity of plants used in Iranian Herbal- Medicine. *Malays J Pharm Sci* 2004; 2: 39- 52.

۸۶- شاکرمی ج، عیدی ب، فیضیان م. بررسی مقدماتی اثر مهارکنندگی اسانس پنج گونه گیاه بر رشد میسلیمیو چهار گونه قارچ بیماریزا در شرایط آزمایشگاهی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال دهم، شماره سوم (ب). پاییز ۱۳۸۵: ۵۰۳-۴۹۷.

۸۷- راد ف، یغمایی ر، مهدی آبادی پ، خطیبی ر. مقایسه تاثیر درمانی پماد تریامسینولون موضعی داخل دهانی و محلول گیاهی مورد در درمان ضایعات آفتی مینور دهان. مجله ارمغان دانش. دوره ۱۵. شماره ۳. ۱۳۸۹ (شماره پی در پی ۵۹): ۱۹۸-۱۹۱.

۸۸- شیرازی م ح، فاضلی م، سلطان دلال م م، اشراقی س، جمالی فرح، علم الهدی ا. بررسی اثر ضد میکروبی ۱۰ عصاره گیاهی بر روی هلیکوباکتر پیلوری و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های موثر انتخابی. فصلنامه گیاهان دارویی. شماره هفتم. تابستان ۱۳۸۲: ۶۰-۵۳.

89- Şen S, Yalçın M. Activity of Commercial Still Waters from Volatile Oils Production Against Wood Decay Fungi. Maderas Cienc Tecnol 2010; 12(2):127-133.

90- Al Laham SA, Al Fadel FM. Antibacterial Activity of Various Plants Extracts Against Antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila*. Jundishapur J Microbiol. 2014; 7(7): e11370.

91- Conti B, Canale A, Bertoli Al, Gozzini F, Pistelli L. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Parasitol Res 2010; 107: 1455- 1461.

92- Fani MM, Kohanteb J, Araghizadeh A. Inhibitory Activity of *Myrtus communis* Oil on Some Clinically Isolated Oral Pathogens. Med Princ Pract 2014; 23: 363- 368.

۹۳- مهربان سنگ آتش م، کاراژیان ر، بیرقی طوسی ش. مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) بر باکتری های مولد فساد و بیمار یزای مواد غذایی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۴. شماره ۳. پاییز ۱۳۸۶: ۱۳-۹.

94-Verdian-rizi M. Essential Oil Composition and Biological Activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. From Iran. Am Eurasian J Agric Sci 2008; 2(1): 69-71.

95- Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Koocheki A, Afsharian SH, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial properties of plant extracts of *Thymus vulgaris* L., *Ziziphora tenuior* L. and *Mentha Spicata* L., against important foodborne pathogens in vitro. Sci J Microbiol 2013; 2(2): 23-30.

96- Soltani Nejad Sh. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil against some pathogenic bacteria. Afr J Microbiol Res February 2012; 6(7): 1504-1508.

۹۷- گلستانی کلات ز، مروج غ، عزیزی ارانی م، هاتفی س. سمیت تنفسی اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر حشرات کامل سوسک چهار نقطه ای حبوبات. حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۵. (۳). پاییز ۱۳۹۰: ۲۹۵-۲۸۶.

98- Zarei Mahmoudabadi A, Dabbagh MA, Fouladi Z. In Vitro Anti-Candida Activity of *Zataria multiflora* Boiss. Evid Based Complement Alternat Med 2007; 4(3): 351-353.

۹۹- صمصام شریعت ه. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. چاپ اول. انتشارات مانی. اصفهان.

۱۳۷۴.

100- Moon T , Wilkinson JM , Cavanagh HMA. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitol Res* 2006; 99: 722-728.

101- D'Auria FD, Tecca M, Strippoli V, Salvatore G, Battinelli L, Mazzanti G. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. Department of Public Health, University La Sapienza. *Med Mycol* 2005; 43: 391- 396.

102- Zuzarte M, Gonçalves M J, Cavaleiro C, Canhoto J, Vale-Silva L, Silva M J, Pinto E, Salgueiro L. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér. *J Med Microbiol* 2011 ;60 (5): 612- 618.

۱۰۳- میرکاظمی ف، بندانی ع، صباحی ق. سمیت تنفسی اسانس های پنج گونه گیاه داروئی روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه ای حبوبات و شیشه آرد. گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی).

جلد ۳۲. شماره ۲. اسفند ۱۳۸۸: ۵۳ - ۳۷.

104- Perez GS, Lopezma R, Sanchez-Miranda E, Orozcomc F. Antiprotozoa activity of some essential oils. *J Med Plant Res* 2012; 6(15): 2901-2908.

105- Kheirabadi Kh P, Teixeira da Silva JA. *Lavandula angustifolia* essential oil as a novel and promising natural candidate for tick (*Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*) control. *Exp Parasitol* 2010; 126. 2 : 184-186.

106- Jaenson TG, Garboui S, Palsson K. Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent Mygg A natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *J Med Entomol* 2006; 43(4): 731-6.

107- Sienkiewicz M, Kalembe D, Wasiela M. Sensitivity assessment of thyme and lavender essential oils against clinical strains of *Escherichia coli* for their resistance. *Med Dosw Mikrobiol* 2011; 63(3): 273- 81.

108- Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, van Griensven L J. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an invitro model. *Molecules* 2010;15(11): 7532- 7546.

109- Amarasinghe LD, Wijesinghe WKAGA , Jayawardhane BK. Efficacy of essential oils from bark and leaf of *Cinnamomum zeylanicum* on root knot nematode, *Meloidogyne graminicola* in rice seedlings and young rice plants. *J Sci Univ Kelaniya* 2011; 6: 45- 54.

110- Nadia MT, Abu El Ezz, Fathia AMK , Raafat MS. Therapeutic Effect of Onion (*Allium cepa*) and Cinnamon(*Cinnamomum zeylanicum*) Oils on Cryptosporidiosis in Experimentally Infected Mice. *Glob Vet* 2011;7 (2): 179-183.

111-Fichia G, Flaminib G, Zarallia L J, Perruccia S. Efficacy of an essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* against *Psoroptes cuniculi*. *Phytomedicine* 2007; 14: 227- 231.

112- Azima Laili H, Ho Tze M, Vishalani Vishnu N, Ahmad Taufik Y. Laboratory evaluation of six crude plant extracts as repellents against larval *Leptotrombidium deliense* (Acari: Trombiculidae). *Asian Pac J Trop Biomed* 2012: S257- S259.

۱۱۳- عطایی ز، انصاری م، آیت الهی موسوی ا، میرزایی ا. مطالعه آزمایشگاهی اثر ضد قارچ عصاره

های افسنتین، اکالیتوس، پیاز، دارچین، زردچوبه، مریم گلی، نعناع و همیشه بهار بر سوش استاندارد

کاندیدا آلبیکانس در مقایسه با دهان شویه نیستاتین. مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان،

دوره ۱۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۶: ۹۷-۹۱.

۱۱۴- رنجبریان پ ، صادقیان س ، شیرازی م ح ، صراف نژاد ع ، فاضلی م ر ، امین غ ر ، مجلسی ا ، مانی کاشانی خ ، کورکی م. مطالعه اثر ضد باکتریایی ۴ عصاره گیاهی دارچین ، زیره سیاه ، رازیانه و شوید بر روی هلیکوباکتر پیلوری به روش دیسک دیفیوژن و فلوسیتومتری. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان. سال یازدهم. شماره ۳. پائیز ۱۳۸۳: ۴۳- ۴۲.

115- Unlu M, Ergene E, Unlu GV, Zeytinoglu HS, Vural N Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). Food Chem Toxicol 2010; 48: 3274- 3280.

۱۱۶- نوری ن، توریان ف، رکنی ن د، آخوند زاده ا، میثاقی ع. بررسی اثر نگهدارندگی اسانس دارچین و درجه حرارت نگهداری بر روی میزان رشد *E. coli* O157:H 7 در همبرگر با استفاده از تکنولوژی ترکیبی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. دوره ۷. شماره ۴. زمستان ۱۳۸۹: ۴۲- ۳۵.

۱۱۷- زمانی ن، نقش ن، فتح پور ح. بررسی تأثیر عصاره هیدرو الکلی کافور بر فعالیت آنزیم های کبدی و بافت کبد موشهای سوری نر مسموم شده با تیواستامید. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. دوره بیست و دوم. ویژه نامه ۱. اسفند ۱۳۹۱: ۱۲۳- ۱۱۶.

118-Rabiu H, Subhasish M, Parag G. Investigation of in Vitro Anthelmintic activity of *Cinnamomum* Camphor Leaves. Int. J. Drug Dev & Res 2011; 3 (1): 301-306.

119- Rajeshwari YB, Suhas YS, Bhagwat VG. SCAVON VET Cream - A Herbal Formulation for the Treatment of Mange in Pigs. Veterinarian 2004: 16 – 21.

120- Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. Immunol Today 1999; 20:561-567.

121-Rigano`R, Profumo E, Di Felice G, Ortona E, Teggi A, Siracusano A. In vitro production of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from hydatid patients. Clin. Exp. Immunol 1995; 99:433- 439.

122- Sher A, Pearce E, Kaye P. Shaping the immune response to parasites: role of dendritic cells. Curr. Opin. Immunol 2003; 15: 421- 429.

123-Kanan JH, Chain BM. Modulation of dendritic cell differentiation and cytokine secretion by the hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus*. Immunology 2006; 118(2): 271- 278.

124- Janssen D, Osuna A, Lazuen J, de Rycke PH. Comparative cytotoxicity of secondary hydatid cysts, protoscoleces, and in vitro developed microcysts of *Echinococcus granulosus*. J Helminthol 1992; 66: 124- 131.

125- Janssen D, Rueda MC, de Rycke PH, Osuna A. Immunomodulation by hydatid cyst fluid toxin (*Echinococcus granulosus*). Parasite Immunol 1997; 19:149- 160.

126-Jenkins P, Dixon JB, Ross G, Cox DA. *Echinococcus granulosus*: changes in the transformational behaviour of murine lymph node cells during early infection. Ann Trop Med Parasitol 1996; 80: 43- 47.

127-Riley EM, Dixon JB, Jenkins P, Ross G. *Echinococcus granulosus* infection in mice: host responses during primary and secondary infection. Parasitology 1986; 92 (2): 391- 403.

128- Riley EM, Dixon JB. Experimental *Echinococcus granulosus* infection in mice: immunocytochemical analysis of lymphocyte populations in local lymphoid infections during early infection. Parasitology 1987; 94 (3): 523- 532.

- 129- MacIntyre AR, Dixon JB, Bleakley JS, Green JR. *Echinococcus granulosus*: assays for hydatid immunoregulatory factors using established lymphoid cell lines. *Parasite Immunol* 2000; 22: 475- 485.
- 130- Dematteis S, Piroto F, Marques J, Nieto A, Orn A, Baz A. Modulation of the cellular immune response by a carbohydrate rich fraction from *Echinococcus granulosus* protoscoleces in infected or immunized Balb/c mice. *Parasite Immunol* 2001; 23: 1- 9.
- 131-Phipps RP, Stein SH, Roper RL. A new view of prostaglandin E regulation of the immune response. *Immunol Today* 1991; 12: 349- 352.
- 132- Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245- 252.
- 133- Ramaswamy K, Kumar P, He YX. A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *J Immunol* 2000; 165: 4567- 4574.
- 134-Yellin MJ, Brett J, BaumD, Matsushima A, Szabolcs M, Stern D, Chess L. Functional Interactions of T Cells with Endothelial Cells: The Role of CD40L-CD40-mediated Signals. *J Exp Med C The Rockefeller University Press* 1995; 182 : 1857-1864.
- 135- Lommatzsch M, Bratke K, Knappe T, Bier A, Dreschler K, Kuepper M, Stoll P, Julius P , Virchow JC. Acute effects of tobacco smoke on human airway dendritic cells in vivo. *Eur Respir J* 2010; 35: 1130- 1136.
- 136-Yanagita M, Mori K, Kobayashi R, Kojima Y, Kubota M, Miki K, Yamada S, Kitamura M, Murakami S. Immunomodulation of dendritic cells differentiated in the presence of nicotine with lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*. *Eur J Oral Sci* 2012; 120: 408- 414 .

- 137- Khanna A, Shankar Gautam D, Gokhale M, Kumar Jain S. Tobacco Dust Induced Genotoxicity as an Occupational Hazard in Workers of Bidi Making Cottage Industry of Central India. *Toxicol Int.* 2014; 21(1): 18-23.
- 138- Ghazavi A, Solhi H , Moazzeni SM, Rafiei M. Cytokine Profiles in Long- Term Smokers of Opium(Taryak). *J Addict Med* 2013; 7. 3: 200-203.
- 139- Tedeschi E, Menegazzi M, Margotto D, Suzuki H, Forstermann U, Klenert H. Anti-Inflammatory Actions of St. John's Wort: Inhibition of Human Inducible Nitric-Oxide Synthase Expression by Down-Regulating Signal Transducer and Activator of Transcription-1 α (STAT-1 α) Activation. *JPET* 2003; 307: 254- 261.
- 140- Mozaffari Sh, Esmaily H, Rahimi R, Baeri M, Sanei Y, Asadi-Shahmirzadi A, Salehi-Surmaghi MH, Abdollahi M. Effects of Hypericum perforatum extract on rat irritable bowel syndrome. *Pharmacogn Mag.* 2011; 7(27): 213- 223.
- 141- Kang BY, Chung SW, Kim TS. Inhibition of Interleukin-12 Production in Lipopolysaccharide - Activated Mouse Macrophages by Hypericin, an Active Component of Hypericum perforatum. *Planta Med* 2001; 67: 364-366.
- 142- Maxia A, Frau MA, Falconieri D, Karchuli MS, Kasture S. Essential oil of *Myrtus communis* inhibits inflammation in rats by reducing serum IL-6 and TNF- α . *Nat Prod Commun* 2011; 6(10):1545-1548.
- 143- Bouzabata A, Cabral C, Goncalves MJ, Cruz MT, Bighelli A, Cavaleiro C, Casanova J, Tomi F, Salgueiro L. *Myrtus communis* L. as source of a bioactive and safe essential oil. *Food Chem Toxicol* 2015; 75: 166- 172.

144- Hayder N, Bouhlel I, Skandrani I, Kadri M, Steiman R, Guiraud P, Mariotte AM, Ghedira K, Dijoux-Franca MG, Chekir-Ghedira L. In vitro antioxidant and antigenotoxic potentials of myricetin-3-o-galactoside and myricetin-3-o-rhamnoside from *Myrtus communis*: Modulation of expression of genes involved in cell defence system using cDNA microarray. *Toxicol In Vitro* 2008; 22: 567-581.

۱۴۵- امیری ح. شناسایی مواد تشکیل دهنده و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) در مرحله قبل از گلدهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. دوره شانزدهم. شماره ۱. ۱۳۸۷: ۸۶-۷۹.

146- Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R, Shokri H. Evaluation of the immunostimulatory activity of *Ziziphora tenuior* extracts. *Comp Clin Pathol* 2010; 19:459- 463.

147- Amini-Shirazi N, Hoseini A, Ranjbar A, Mohammadirad A, Khoshakhlagh P, Yasa N, Abdollahi M. Inhibition of tumor necrosis factor and nitrosative/oxidative stresses by *Ziziphora clinopoides* (Kahliti); a molecular mechanism of protection against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Toxicol Mech Methods* 2009; 19(2):183-189.

148- Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghan C, Zamani MJ, Nikfar S, Khorasani R, Minaie B, Abdollahi M. Protection by *Ziziphora clinopoides* of acetic acid- induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Hum Exp Toxicol* 2006; 25(6): 325- 332.

149- Mantovani André LL, Vieira Geovana PG, Cunha Wilson R, Groppo M, Santos Raquel A, Rodrigues V, Magalhães LG, Crotti Antônio EM. Chemical composition, antischistosomal and cytotoxic effects of the

essential oil of *Lavandula angustifolia* grown in Southeastern Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 2013; 23 : 877- 884.

150- Zuzarte M, Goncalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Benzarti A, Marongiu B, Maxia A. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Ind Crops Prod* 2013; 44: 97- 103.

151- Dalilan S, Rezaei-Tavirani M, Nabiuni M, Heidari-Keshel S, Zamanian Azodi M, Zali H. Aqueous Extract of Lavender *Angustifolia* Inhibits Lymphocytes Proliferation of Hodgkin's Lymphoma Patients. *Iran J Cancer Prev* 2013; 4:201- 208.

152- Amiri A, Tayarani-Najaran Z, Karimi G, Mousavi S. Evaluation of *Lavandula angustifolia* cytotoxic and apoptotic effects on human cervical cancer cell line (Hela) in compare with normal cells. *Res Pharm Sci* 2012;7(5): S141.

153- Ueno-Iio T, Shibakura M, Yokota K, Aoe M, HyodaT, Shinohata R, Kanehiro A, Tanimoto M, Kataoka M. Lavender essential oil inhalation suppresses allergic airway inflammation and mucous cell hyperplasia in a murine model of asthma. *Life Sci* 2014; 108: 109-115.

154- Faix Š, Faixová Z, Plachá I, Koppel J. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oil on Antioxidative Status in Broiler Chickens. *Acta Vet. Brno* 2009; 78: 411- 417.

155- Joshi K, Awte S, Bhatnagar P, Walunj S, Gupta R, Joshi S, Sabharwal S, Bani S, Padalkar AS. *Cinnamomum zeylanicum* extract inhibits

proinflammatory cytokine TNF α : in vitro and in vivo studies. Res Pharm Biotech 2010; 2(2): 14-21.

156- Chao LK, Hua KF, Hsu HY, Cheng SS, Lin IF, Chen CJ, Chen ST, Chang ST. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling. Food Chem Toxicol 2008; 46: 220- 231.

157- Sung YY, Yoon T, Jang JY, Park SJ, Jeong GH, Kim HK. Inhibitory effects of Cinnamomum cassia extract on atopic dermatitis-like skin lesions induced by mite antigen in NC/Nga mice. J Ethnopharmacol 2011;133: 621-628.

158- Lee BJ , Kim YJ, Cho DH, Sohn NW, Kang H. Immunomodulatory effect of water extract of cinnamon on anti-CD3- induced cytokine responses and p38, JNK, ERK1/2, and STAT4 activation. Immunopharmacol Immunotoxicol 2011; 33(4): 714- 722.

159- Bi- xian Y, Qi-zhi H, Xin H, Xue-lin Y. Chemical Constituents of the Volatile Oil from the Root of Cinnamomum camphora by Supercritical Carbon Dioxide Fluid Extraction by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Chin J Exp Trad Med F: 2012-2022.

160- Lee HJ, Hyun EA, Yoon WJ, Kim BH, Rhee MH, Kang HK, Cho JY, Sook Yoo E. In vitro anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Cinnamomum camphora extracts. J Ethnopharmacol 2006; 103: 208-216.

161- Tariku Y, Hymete A, Hailu A, Rohloff J. In vitro evaluation of anti leishmanial activity and toxicity of essential oils of artemisia absinthium and echinops kkebericho. Chem Biodivers 2011; 8(4): 614 – 623.

162- Soudi S, Hashemi SM, Zavaran Hosseini A, Ghaemi A, Jafarabadi Asghari M. Antileishmanial effect of Echinacea purpurea root extract cultivated in Iran. Iran J Pharm Sci 2007; 6 (2): 147-149.

163- Smyth JD, Barrett NJ. Procedure for testing the viability of human hydatid cysts following surgical removal, specially after chemotherapy. Trans R Soc Trop Med Hyg 1980; 74: 649- 652.